
ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

La Sérothérapie dans le traitement de la dysenterie bacillaire

PAR MM.

VAILLARD

ET

CH. DOPTER

Médecin inspecteur de l'armée.

Médecin major de 2^e classe.
Professeur agrégé du Val-de-Grâce.

Nous avons déjà fait connaître dans ces *Annales*¹ les propriétés acquises par le sérum des chevaux immunisés contre le bacille dysentérique, son pouvoir antimicrobien et antitoxique, son action préventive et curative dans la dysenterie expérimentale des animaux, enfin ses applications pratiques à la médecine humaine basées sur le traitement de 96 malades ; il a paru ressortir de l'ensemble des faits expérimentaux et cliniques que ce sérum constituait réellement l'agent spécifique pour le traitement de la dysenterie bacillaire. Les résultats obtenus depuis lors par l'emploi de la sérothérapie dans la dysenterie de l'homme confirment ces premières données ; la présente note a pour but de l'établir.

Au cours de l'été 1906, il a été traité 243 cas de dysenterie se répartissant en deux groupes qui seront envisagés séparément.

a) 200 dysentériques, dont 10 enfants, observés dans les hôpitaux de Paris (49), Lyon (73), Bordeaux (17), Toulon (20), Toul (7); ou parmi des malades non hospitalisés; de ces derniers 19 appartiennent à une épidémie de Bretagne;

b) 43 dysentériques des asiles d'aliénés de Maréville (Meurthe-et-Moselle) et de Quatre-Mares (Seine-Inférieure).

Tous ces malades n'ont pas été traités par nos soins ; nous exprimons notre gratitude aux médecins qui, après avoir utilisé

1. VAILLARD ET DOPTER, Le sérum antidysentérique, *Annales de l'Institut Pasteur*, mai 1906.

Le sérum, ont bien voulu nous communiquer les résultats obtenus avec leur appréciation personnelle.

I

Les 200 dysenteries du premier groupe étaient d'inégale gravité. En se basant sur l'acuité des troubles intestinaux (coliques, fréquence quotidienne des selles, caractères des déjections), et sur les symptômes d'intoxication (vomissements, adynamie, faiblesse du pouls, hypothermie, état syncopal, etc.) on peut les diviser de la manière suivante :

Cas d'intensité moyenne.....	101
Cas graves.....	55
Cas extrêmement graves.....	49
Cas considérés comme mortels.....	25
	<hr/>
	200

Ce chiffre de malades dans lequel la proportion des cas graves ou mortels (99) entre pour moitié, a donné 10 décès, en y comprenant ceux qui sont survenus chez des sujets déjà en imminence de mort au moment où le sérum a été injecté ; soit une mortalité brute de 5 0/0. Mais la plupart de ces décès, sinon tous, ne sauraient être valablement retenus au passif de la sérothérapie, comme il ressortira des commentaires suivants sur les circonstances où ils se sont produits :

1^o Deux décès concernent des marins de Toulon, très gravement atteints depuis plusieurs jours et conduits à l'hôpital Saint-Mandrier en état de collapsus ; leur situation était désespérée au moment où le sérum a été injecté. (Note du Dr Planté) ;

2^o Deux décès ont trait à des malades de Bretagne qui étaient déjà mourants ou presque mourants lorsque le sérum a été employé ; l'un a succombé le jour même de l'injection, l'autre le lendemain. (Note du Dr Marchais, de Carhaix) ;

3^o Adulte malade depuis 8 jours. La fréquence des selles est modérée (17 à 20 par 24 heures), mais des symptômes significatifs traduisent une profonde intoxication : prostration, adynamie, algidité, aphonie, pouls misérable, facies cholérique. Deux injections de 100 c. c. sont pratiquées, mais le sujet s'éteint dans une syncope 36 heures après le début du traitement. — Les lésions intestinales étaient limitées, réduites à trois pla-

ques ulcérées. Il s'agissait d'une dysenterie hypertoxique qui eût peut-être guérie si le sérum avait été appliqué dès le début de la maladie et non aux approches de la mort;

4° Sujet adulte, malade depuis *trois semaines*, et traité successivement par les purgatifs, le bleu de méthylène, l'ipéca. Au moment où l'on a recours au sérum, la situation du patient est désespérée; expulsion de lambeaux de muqueuse sphacélée, collapsus. Une dose de 20 c. c. de sérum est injectée quotidiennement. La mort survient au troisième jour de ce traitement.

A l'autopsie : péritonite généralisée, agglutinant les anses intestinales. Le gros intestin est ulcéré dans toute son étendue, de l'anus au cœcum et souvent jusqu'à la musculuse; les lésions ulcéraives intéressaient l'appendice et la portion terminable du grêle. (Médecin principal Berthier);

5° Sujet adulte, au dixième jour d'une dysenterie considérée comme mortelle, reçoit la dose absolument insuffisante de 70 c. c. de sérum réparties en 4 jours. Mort 7 jours après le début d'un traitement qui a été tardif et trop parcimonieux. (Toul);

6° Sujet adulte atteint depuis 5 jours d'une dysenterie exceptionnellement grave. Au moment où le sérum intervient, les selles sont incessantes, incompressibles; le malade reste, pour ainsi dire, collé sur le vase. Pouls misérable avec adynamie inquiétante. Un lambeau de muqueuse sphacélée long de 15 à 20 centimètres a été expulsé.

Après 13 jours d'un traitement intensif pendant lequel 810 c. c. de sérum furent injectés, cette maladie d'un pronostic fatal était *complètement guérie* et l'évacuation quotidienne réduite à une selle moulée. Mais au *dixième jour de la guérison confirmée* surviennent brusquement des épistaxis incoercibles, puis des hématomés entrainant une cachexie rapide, des convulsions et la mort en trois jours.

Ainsi ce sujet, notoirement guéri de sa dysenterie depuis 10 jours, meurt de septicémie hémorragique à marche presque foudroyante, dont une vie quelque peu dérégulée avait sans doute facilité l'incidence;

7° Enfant de 5 ans, émigrant russe, maigre et d'aspect misérable qui dès son entrée à l'hôpital (service de M. Guinon) « apparaît profondément intoxiqué; teint terreux, abattement, somnolence; 65 selles muco-sanglantes dans les 24 heures.

T. : 39°; pouls petit et mou; algidité très marquée ». Le traitement par le sérum est commencé 6 jours après le début de cette dysenterie grave et à la dose quotidienne de 40 c. c. Les troubles intestinaux s'amendent aussitôt. Mais dès le lendemain de la première injection se déclare une broncho-pneumonie double qui emporte le petit malade en 4 jours.

L'autopsie montre, indépendamment des lésions classiques de la dysenterie, une broncho-pneumonie pseudo-lobaire, bi-latérale, avec hépatisation grise due au pneumocoque. « Il faut reconnaître, disent MM. Ribadeau-Dumas et Burnier, que la mort était plus imputable à la broncho-pneumonie qu'à la dysenterie que la clinique et l'étude anatomique nous a montrée en voie de guérison. » (*Société de pédiatrie*, 16 oct. 1906).

Un frère de ce petit malade, âgé de 3 ans, avait été également conduit à l'hôpital pour une dysenterie de même gravité; il est traité par le sérum et guérit en 7 jours ;

8° Adulte atteint depuis 24 heures d'une dysenterie très grave avec adynamie, vomissements incoercibles et albumine dans les urines. Des injections quotidiennes de 50 c. c. de sérum produisent rapidement une sédation de tous les symptômes et une diminution considérable du nombre des selles. Mais dès le 3^e jour surviennent des accidents sériques (érythème généralisé) dont l'intensité oblige à suspendre le traitement. Les troubles intestinaux reprennent aussitôt. De nouvelles injections de sérum sont pratiquées à doses modérées (20 c. c.). La dysenterie s'apaise, mais les accidents sériques, accompagnés de fièvre, se reproduisent avec une intensité plus grande. L'emploi du sérum est encore suspendu et cette interruption est immédiatement suivie d'une reprise de la dysenterie avec aggravation de l'état général. Devant les menaces qui en résultent pour la vie, on essaye une troisième fois des doses faibles de sérum, mais l'intolérance se manifeste avec une acuité progressivement croissante, et force est bien d'abandonner définitivement le sérum.

Dès lors, la dysenterie traitée par les moyens usuels évolue sans amendement : les selles redeviennent fréquentes, l'amalgissement est rapide, le muguet s'installe et le malade s'éteint lentement, dans le délire, six semaines après le début de l'affection.

C'est la première fois qu'il nous est donné de constater une pareille intolérance à l'égard du sérum, même dans les circonstances où des quantités bien plus considérables avaient été injectées.

En vérité, on ne saurait imputer tous ces décès à un insuccès de la méthode. Cinq d'entre eux se produisent chez des sujets presque mourants au moment où le traitement commence ; un sixième est dû à une péritonite déjà en évolution sans doute lorsque le sérum intervient : l'action du sérum a des limites et ne peut être tenue à l'impossible. Ici la pneumonie grise tue un jeune enfant dont la dysenterie est en bonne voie de guérison ; là une septicémie hémorragique emporte un adulte déjà guéri depuis 10 jours : le sérum ne constitue pas le remède à tous les maux. Ailleurs enfin, le sérum n'est pas toléré ou n'est employé que tardivement et à des doses absolument insuffisantes. Cependant, et malgré la logique, nous avons tenu à comprendre toutes ces morts dans notre statistique afin de lui conserver sa sincérité ou, pour mieux dire, afin de l'établir sur un abus de sincérité.

Mais si, tout au moins, on fait abstraction des six cas où le sérum ne pouvait agir parce qu'il s'adressait à des malades dont la situation était désespérée et la mort prochaine, on arrive alors à une mortalité de 2 0/0 ; et cette proportion reste encore *au-dessus* de la vérité, ainsi qu'il découle des explications qui précèdent.

Cette mortalité de 2 0/0 (en admettant qu'elle soit bien exacte) n'apparaît pas moins très éloquente lorsqu'on la rapproche des cas graves (74) et surtout des cas *mortels* (25) traités par le sérum. Le bénéfice obtenu se suppose aussi par la comparaison avec la léthalité moyenne de la dysenterie en divers pays :

24 0/0 au Japon (Shiga) ;

42 à 17 0/0 à Moscou (Rosenthal) ;

11 0/0 en Westphalie rhénane (Kruse) ;

6, 9 0/0 à Toulon sur les 129 malades de l'épidémie de 1906, encore que, vers la fin de l'épidémie, 20 dysentériques parmi les plus graves aient été soumis à la sérothérapie ;

20 à 50 0/0 en Bretagne, au cours de l'été 1899 (Netter) ;

50 à 60 0/0 dans les épidémies annuelles des environs de Carhaix (Finistère). (D^r Marchais.)

Cette comparaison dispense de tout commentaire. Cependant, à ce sujet, il ne sera pas inutile de citer un épisode de l'épidémie bretonne de 1906.

Le Dr Marchais (de Carhaix) est appelé le 1^{er} décembre dans une famille de 7 personnes qui toutes ont été ou sont atteintes de dysenterie. Une enfant de 8 ans est morte le 24 novembre; le père, âgé de 49 ans, a succombé le 29 novembre. La mère et une fille de 13 ans sont en voie de guérison. De ces 4 sujets qui ont fourni 2 décès, aucun n'a reçu de sérum.

Au moment de la visite du médecin, les trois autres membres de la famille sont très dangereusement infectés.

Un garçon de 11 ans est malade depuis 8 jours; son jeune frère âgé de 5 ans est atteint depuis 4 jours. Tous deux présentent de 120 à 150 évacuations sanglantes par 24 heures. Le sérum leur est injecté et la guérison se fait rapidement, en quelques jours.

Le frère aîné, âgé de 22 ans, présente depuis 48 heures une dysenterie plus grave encore et qui paraît devoir être fatalement mortelle. Les déjections sont incessantes, presque entièrement hémorragiques. Le facies est grippé, le pouls petit et filant, l'adynamie très marquée; l'algidité commence. « J'ai vu peut-être 300 cas de dysenterie depuis 8 ans, écrit le Dr Marchais, et ceux qui ont suivi cette marche se sont presque tous terminés par la mort. » Le sérum est injecté à haute dose (180 c. c. en 3 jours), et la guérison inespérée s'établit très rapidement.

Cette observation d'un praticien familiarisé avec la gravité de la dysenterie bretonne méritait bien d'être rapportée.

Le critérium de la valeur du sérum ne réside pas seulement dans l'abaissement de la mortalité; on le trouve aussi dans le soulagement immédiat qu'il procure aux malades et la rapidité de leur guérison. Les faits antérieurement énoncés à ce sujet se sont vérifiés de tous points chez les dysentériques traités depuis lors. Le sérum apaise en quelques heures les douleurs abdominales, le ténésme et les épreintes; il fait fléchir la fréquence des selles avec une brusquerie que les graphiques insérés dans notre précédent mémoire ont reproduit d'une manière saisissante¹. En même temps la nature des déjections

1. Voir ces *Annales*, mai 1906.

change : le sang disparaît d'abord, puis le mucus et les matières reviennent à l'état fécaloïde, indice de la guérison prochaine. Les dysenteries d'intensité moyenne sont jugulées en 24 ou 48 heures. Dans les dysenteries graves, tel malade qui présentait 100, 150 et même 200 selles au moment où le traitement est institué n'en subit plus que 20, 10 ou quelques unités après 2 ou 3 injections de sérum. L'état général se transforme parallèlement et la guérison complète survient en 4 ou 6 jours pour les cas graves, en 10 ou 15 jours dans ces formes où l'intensité des symptômes abdominaux et les signes d'intoxication imposaient le présage d'une issue fatale. Nous pourrions citer maint cas où, après échec des moyens employés et contre toute espérance de l'entourage, le sérum rationnellement employé a mis fin au progrès menaçant d'un mal redoutable. Le sérum apparaît alors comme un remède vraiment héroïque, parce qu'il est le remède spécifique.

Encore doit-il arriver à temps, avant la détresse irrémédiable de l'organisme, à cette période où la défense cellulaire peut bénéficier du secours qui lui arrive. La dysenterie guérit d'autant mieux et plus vite que le sérum intervient plus près de son début; dans ces conditions elle est facile à enrayer, et comme on ne peut jamais prévoir la gravité ultérieure d'une dysenterie qui commence, il sera toujours prudent d'injecter le sérum de bonne heure.

Encore faut-il aussi que le sérum soit donné en quantité convenable, proportionnée à l'intensité de l'infection. Si les doses faibles (20 c. c.) suffisent habituellement aux cas moyens, elles restent au-dessous des nécessités dans les formes graves, surtout quand leur début date déjà de plusieurs jours. Ces formes dangereuses réclament impérieusement, et d'emblée, des doses fortes, (50, 80, 100 c.c.) et un traitement intensif : la guérison est à ce prix. Agir autrement, c'est favoriser des insuccès qu'il serait possible d'éviter.

II

43 dysentériques ont été traités dans les asiles de Maréville, (Dr Aubry) et de Quatre-Mares (Dr Lallemand).

La dysenterie est fréquente et grave chez les aliénés; elle fait chaque année son apparition dans beaucoup d'établisse-

ments, déterminant parfois de grosses épidémies. La mortalité est surtout grande lorsque la maladie frappe les quartiers d'agités ou d'infirmes (paralytiques déments); elle peut s'élever alors à 15 ou 25 0/0, tandis que les sections d'aliénés valides et jeunes sont plus épargnées.

Certains ont pensé que la dysenterie des aliénés était d'une nature spéciale. Kruse a décrit en 1901 un bacille particulier, le « pseudo-dysentérique ». Depuis lors on a rencontré des bacilles dysentériques différents dans les épidémies d'asile : tantôt le type Shiga qui est celui de la maladie habituelle à nos pays, tantôt le type Flexner, tantôt enfin des variétés se rapprochant plus ou moins de l'un ou de l'autre (*para-dysentérique*). Pour Lieffmann et Nieter¹, tous les bacilles isolés dans la dysenterie des aliénés ne seraient que des *para-dysentériques*. Cette question étiologique est encore incertaine. Quoi qu'il en soit, le bacille du type Shiga nous a paru en cause dans l'épidémie de Quatre-Mares et le bacille du type Flexner à Maréville.

16 dysenteries, dont 7 extrêmement graves, sont traitées à l'asile de Maréville. Deux décès se produisent, l'un au 25^e jour, l'autre après six mois par cachexie; pour ces deux cas dont le début remontait déjà à 10 ou 12 jours, le traitement, faute de sérum, a été trop modéré et même suspendu après quelques injections. Les années précédentes, 36 cas avaient fourni 8 décès, soit 22 0/0. Le docteur Aubry, médecin de l'asile, constate l'amendement immédiat de tous les symptômes sous l'influence du sérum et la rapidité de la guérison lorsque la maladie est prise à son début.

A l'asile de Quatre-Mares, 27 dysentériques, dont 10 atteints de formes très graves, sont soumis au sérum : 5 succombent; il s'agissait de paralytiques gâteux et d'un idiot cachectique, tous en état de misère physiologique profonde. De ces décès, l'un est survenu dans la nuit même qui a suivi l'injection et ne saurait être valablement retenu; les quatre autres portent sur des gâteux qui avaient reçu des doses de sérum trop insuffisantes par rapport à la violence de l'infection intestinale. Chez les autres malades, la guérison a toujours été prompte.

De ces faits il semblerait ressortir que : 1^o la dysenterie

1. *Munch. Med. Woch.* Octobre 1906.

des aliénés infirmes, gâteux ou cachectiques affecte une gravité dont le sérum ne triomphe pas aisément, avec cette réserve cependant que le traitement n'a pu être toujours conduit comme il convenait; 2° chez les aliénés valides et résistants, surtout quand la dysenterie est prise au début, des doses très modérées de sérum déterminent une guérison rapide.

III

Ce n'est point par un simple artifice d'exposé que, dans ce compte rendu, nous avons envisagé séparément la dysenterie des aliénés et celle des sujets antérieurement sains. A la vérité, ces faits ne sont pas exactement comparables tant au point de vue de la résistance organique des malades traités que des modes d'emploi du sérum.

Retenant surtout les résultats obtenus chez les 200 dysentériques du premier groupe pour les rapprocher de ceux déjà produits en 1906, nous croyons en pouvoir déduire que cette nouvelle expérience d'une année confirme pleinement nos conclusions antérieures.

« Injecté à doses qui doivent varier avec la gravité des cas, le sérum enraye à la fois l'infection et l'intoxication, produit la sédation presque immédiate de tous les troubles intestinaux et assure une guérison rapide,

« Ses effets sont d'autant plus prompts et décisifs qu'il intervient plus près du début de la dysenterie; celle-ci peut être alors radicalement jugulée dans son évolution.

« Le sérum est encore très efficace dans les dysenteries traitées tardivement; il soulage toujours le malade, arrête les progrès de l'infection et, s'il en est temps encore, hâte la guérison. »

Utiliser le sérum aussitôt que possible après le début de l'affection, en proportionner les doses à l'intensité du mal, telles sont les indications essentielles du traitement. Dans les dysenteries moyennes, 20 ou 30 c. c. peuvent suffire. Mais dans les dysenteries graves, il faut injecter d'emblée 40, 60, 80 c. c. même plus et réitérer cette dose le lendemain; si les troubles intestinaux ne sont pas alors suffisamment apaisés, l'emploi du sérum doit être encore continué à doses décroissantes jusqu'à ce que le nombre des selles se réduise à quelques unités.

Le sérum antidysentérique compte parmi les plus fidèles au point de vue curatif; il est de ceux dont les effets immédiats se traduisent d'une manière évidente et le malade est le premier à en accuser les bienfaits. Ce sérum représente réellement le moyen spécifique du traitement de la *dysenterie bacillaire*; par son action et son efficacité il devient à cette dernière ce que le sérum antidiphtérique est à la diphtérie. Sa vulgarisation permettra de réduire au minimum la mortalité dysentérique. Grâce à son emploi, le médecin peut avoir la certitude de soulager rapidement les souffrances du malade, d'abrégier leur durée en agissant sur la cause qui les provoque et, par cela même, d'assurer à l'intéressé toutes les chances possibles d'une prompte guérison. Et la prophylaxie y trouvera aussi son compte, car en réduisant l'évolution de la maladie on diminue d'autant la période pendant laquelle est émis le contagion qui la propage. Enfin le sérum qui guérit la dysenterie est également capable d'empêcher son développement : employé à titre préventif chez les personnes exposées à la contagion, il peut les mettre à l'abri de l'infection. La fréquence des épidémies de famille dans les milieux ruraux, surtout en Bretagne, la gravité de la maladie chez les enfants et les sujets débiles, justifieront une mesure qui a si bien fait ses preuves pour la diphtérie, c'est-à-dire l'injection préventive. En utilisant le sérum à bon escient, les médecins de nos populations bretonnes, si durement éprouvées chaque année par la dysenterie, ne manqueront pas de sauvegarder bien des existences.

Études sur les Hématozoaires d'Oiseaux

Plasmodium relictum, *Leucocytozoon ziemanni* et *Hæmoproteus noctuæ*,
Haemoproteus columbæ, *Trypanosome* de l'Hirondelle.

ALGÉRIE 1906

(Avec les Pl. VI et VII.)

PAR LES D^{rs} EDMOND SERGENT ET ÉTIENNE SERGENT

Sommaire :

A. *Plasmodium relictum* (= *Proteosoma*) : 1. Infection successive de plusieurs Oiseaux par les mêmes Moustiques non réinfectés.

2. Non-infection par des Moustiques issus de Moustiques infectés.

3. Expériences sur l'immunité de l'Oiseau et sur l'immunité du Moustique.

4. Infection possible du *Stegomyia fasciata*.

B. *Hémosporidies des Rapaces nocturnes*.

Leucocytozoon ziemanni, *Haemoproteus noctuæ*. Recherches de vérification des faits énoncés par F. Schaudinn.

C. *Haemoproteus columbæ*. Découverte du second hôte (*Lynchia maura*). Action de la quinine. Quelques faits sur les *Haemoproteus* d'autres Passereaux (Moineau, Verdier).

D. *Trypanosome* de l'Hirondelle.

*
* *

L'étude des Hémosporidies des Oiseaux, intéressante au point de vue de la biologie générale, l'est aussi pour la pathologie humaine, en raison de la parenté de ces Hémosporidies avec le parasite du paludisme.

La possibilité de l'expérimentation avec les Oiseaux permet d'aborder, par des recherches sur leurs Hémosporidies, des problèmes malaisés à résoudre avec le *Plasmodium* du paludisme, qui ne peut pas infecter d'autre Vertébré que l'Homme. C'est ainsi que des connaissances très importantes ont été d'abord acquises par des expériences sur les Oiseaux, avant d'être vérifiées par des expériences sur l'Homme : découvertes du processus sexué par Mac Callum, du cycle évolutif des *Plasmodium* chez les Moustiques par R. Ross.

Mais les recherches sur les Hématozoaires ne peuvent être effectuées que dans les pays où la température permet de suivre leur évolution dans les conditions naturelles. Nos tenta-

tives d'infection de *Culex* par le *Plasmodium relictum* des Oiseaux étaient restées infructueuses dans la région de Paris en 1903. C'est pourquoi nous avons établi en Algérie, depuis 1903, le siège de nos recherches.

Nous donnons dans ce mémoire nos résultats de 1906.

A. PLASMODIUM RELICTUM GRASSI ET FELETTI 1891

(= *Proteosoma* = *Haemaphysa relictæ*.)

I

INFECTION SUCCESSIVE DE PLUSIEURS OISEAUX PAR LES MÊMES MOUSTIQUES NON RÉINFECTÉS.

Nous avons pu nous convaincre expérimentalement que des Moustiques infectés sur un Oiseau à *P. relictum* peuvent infecter non seulement un *premier* Canari neuf, mais un *second* Canari neuf. Nous n'avons pas constaté l'infection d'un troisième Oiseau par les mêmes *Culex*. Ces faits sont importants à connaître pour l'épidémiologie du paludisme humain.

I. — 36 *Culex* infectés le 9 mai sur un Moineau à *P. relictum* infectent par piqûre un premier Canari le 30 mai, un second le 7 juin.

II. — 12 *Culex* infectés le 7 juin sur un Moineau, infectent un premier Canari le 15 juin, un deuxième le 23 juin.

III. — 40 *Culex* infectés le 19 juin sur un Moineau, infectent un premier Canari le 30 juin, un deuxième le 12 juillet.

IV. — 2 *Culex* infectés, le 14 juillet sur un Moineau infectent un premier Canari le 25 juillet, un deuxième le 15 août.

V. — 3 *Culex* infectés le 15 août sur un Moineau infectent un premier Canari le 29 août, un deuxième le 24 septembre.

Culex n'infectant pas un troisième Canari.

I. — 15 *Culex* provenant des expériences II et III précédentes, c'est-à-dire ayant piqué un Moineau et infecté successivement 2 Canaris neufs, piquent mais n'infectent pas un 3^e Canari neuf le 25 juillet.

II

NON-INFECTION PAR DES MOUSTIQUES ISSUS DE MOUSTIQUES INFECTÉS.

I. — Une dizaine de *Culex* nés d'œufs pondus par des *Culex* infectés piquent le 26 juin un Canari neuf. Aucun résultat.

II. — 40 *Culex* nés d'œufs pondus par des *Culex* infectés piquent le 28 juillet un Canari neuf. Aucun résultat.

L'infection ne paraît donc pas être héréditaire chez les Moustiques.

III

EXPÉRIENCES SUR L'IMMUNITÉ CONTRE LE *P. Relictum*.

A. Immunité des Oiseaux.

Essais d'immunisation des Canaris par des sporozoïtes.

Des glandes salivaires de 4 *Culex pipiens* infectés artificiellement, reconnues bourrées de sporozoïtes, sont mises en suspension dans de l'eau citratée. Une portion est chauffée 10' à 50°, puis inoculée le 11 juillet sous la peau d'un Canari neuf, le reste inoculé sans chauffage à un 2^e Canari. Aucun symptôme morbide. Le 2^e Canari meurt accidentellement. Le 1^{er} Canari reçoit le 28 juillet, sous la peau, les glandes salivaires très infectées de deux *C. pipiens*, non chauffées. Pas d'infection. Le 16 août il est placé dans une cage de *C. pipiens* infectés dont 11 le piquent. Le 21, les premiers *Plasmodium* se montrent dans son sang, deviennent très nombreux le 26, puis diminuent graduellement. Guérison relative comme chez les témoins.

Cette expérience montre que l'inoculation sous-cutanée de sporozoïtes ne donne pas à coup sûr l'infection (2 cas), et qu'un Canari, traité par de très nombreux sporozoïtes vivants, n'est pas immunisé.

B. Immunité des Moustiques.

a) Effet nul de l'acide citrique sur l'évolution du *Plasmodium* chez le Moustique.

Schoo signale, dans son mémoire : *La Malaria in Olanda*¹ que : « Nei miei primi esperimenti non mi era possibile infettare le anofele col sangue anche pieno di gameti e cominciaro già a credere a questa immunità, quando mi accorsi che causa di questa sterilità era il mangiare della frutta acide prima e dopo la puntura. Non nutrendo le zanzare che coll' acqua chiara e dando loro soltanto quattro giorni dopo la puntura il melone (frutto nè acido nè dolce) il risultato era costantemente positivo, se tutte le altre condizioni era buone. »

Le fait nous a paru assez intéressant pour devoir être vérifié expérimentalement. Nous nous sommes servis de l'acide citrique, qui se trouve dans un grand nombre de fruits.

I. — Dans une 1^{re} expérience, des *Culex* neufs n'étaient nourris, dès leur éclosion, qu'avec du sirop à 2 % d'acide citrique : ce sont les *traités préventivement*.

1. *Atti d. Soc. p. g. Stud. d. Malaria*, t. III, 1902, p. 204.

Le 21 septembre, 10 de ces *Culex* piquent un Canari fortement parasité.

Dans la même nuit, le même Canari est piqué par 22 *Culex* neufs. Le lendemain matin, 11 de ces *Culex* sont placés dans une cage où ils sont nourris exclusivement avec le même sirop citrique, ce sont les *traités curativement*; les 11 derniers *Culex* sont nourris comme d'habitude avec du sirop simple et servent de témoins.

Le 29 septembre (8 jours après, température oscillant entre 24° et 30°), tous les *Culex* survivants sont disséqués :

<i>Traités préventivement</i> :				1 — 30 zygotes presque mûrs.
	1 —	31 —	dont quelques-uns mûrs (sporozoïtes libres).	
	1 —	40 —	dont le 1/3 est mûr (spor. libres).	
	1 —	56 —	dont la plupart mûrs (spor. libres, mais aucun dans les glandes salivaires).	

Chez 4 *Culex* 157 zygotes. (Moyenne de 39 par *Culex*).

<i>Traités curativement</i> :				1 — 92 zygotes (spor. libres).
	1 —	1 —	non mûr.	
	1 —	60 —	au minimum, la 1/2 mûrs.	
	1 —	27 —	1 seul mûr.	
	1 —	32 —	au minimum, presque mûrs.	
	1 —	51 —	1/3 mûrs (spor. libres).	
	1 —	30 —	la plupart mûrs (spor. nombreux dans les glandes salivaires.)	

Chez 7 *Culex* 293 zygotes (Moyenne de 41 par *Culex*).

<i>Témoins</i> :				1 — 33 zygotes presque mûrs.
	1 —	1 —	non mûr.	
	1 —	4 —		
	1 —	0		
	1 —	0		

Chez 5 *Culex* 38 zygotes (Moyenne de 7 par *Culex*).

II. — Dans une expérience plus sévère, les *Culex* étaient mis, dès leur naissance, au régime exclusif d'un sirop préparé avec une solution saturée d'acide citrique. La plupart des *Culex* succombèrent à la suite de l'ingestion d'une solution aussi forte. Cependant 7 *Culex* traités ainsi *préventivement* piquèrent le 24 septembre un Canari infecté. Il en mourut 5 les jours suivants (même régime, température de 24° à 26°); des deux survivants, l'un fut disséqué le 8 octobre : assez nombreux petits zygotes, et le second le 9 octobre : zygotes clairs contenant encore du pigment, nombreux surtout dans la dernière portion de l'estomac. Ils mesurent 12 μ de diamètre en moyenne.

Ainsi donc, des doses d'acide citrique capables même de tuer les Moustiques n'empêchent pas l'évolution du *Plasmodium* dans leur corps. Il faut donc chercher une autre explication que l'acidité des fruits à la non-infection des cas de Schoo.

b) Une première atteinte ne confère pas l'immunité aux
Moustiques.

Deux *C. pipiens*, restant du lot qui avait piqué un Moineau infecté, avaient infecté ensuite un premier Canari neuf, puis un deuxième Canari neuf; ils piquent le 24 septembre un Canari infecté. L'un d'entre eux est disséqué le 11 octobre, son estomac porte 4 zygotes de 36 μ , sans trace de sporoblastes, plus 5 débris de zygotes. Le deuxième, disséqué le 12 octobre, contient au minimum 60 zygotes de 35 à 40 μ .

Les Moustiques n'acquièrent donc pas l'immunité à la suite d'une première atteinte, dans les conditions ordinaires. Il s'agira à présent de varier ces conditions, pour voir dans quels cas pourrait se réaliser l'hypothèse de A. Celli, de l'immunité acquise des Moustiques vis-à-vis du *Plasmodium* pour expliquer les cas d'*anophélisme sans paludisme*.

IV

INFECTION DE « *Stegomyia fasciata* » PAR « *Plasmodium relictum* ».

Un certain nombre seulement d'espèces d'Anophélines sont sensibles au *Plasmodium* humain. D'autre part, les expériences faites avec le *Plasmodium relictum* n'ont porté jusqu'ici que sur quelques espèces du genre *Culex*.

Nous avons recherché si le pouvoir infectant de *Plasmodium relictum* était limité au genre *Culex* et ne s'étendait pas, par exemple, aux *Stegomyia fasciata* trouvés dans les mêmes gîtes que les *Culex* de nos expériences précédentes.

Sur 2 *Stegomyia fasciata* ayant piqué le 21 septembre un Canari fortement parasité, et disséqués le 29 septembre, un n'est pas parasité, mais l'autre porte un zygote bien formé, non encore mûr. Les *Culex* disséqués en même temps figurent sur les tableaux précédents. Quelques-uns de ces *Culex* n'ont pas plus d'un zygote, et certains ne sont pas infectés.

Pl. relictum peut donc parasiter des Moustiques d'un autre genre que les *Culex*. Le fait est intéressant si l'on songe que les entomologistes ont tendance à éloigner beaucoup le genre *Stegomyia* du genre *Culex*.

B. HÉMATOZOAIRES DES RAPACES NOCTURNES

Le grand intérêt qui s'attache aux mémorables travaux de F. Schaudinn¹ sur les générations alternantes, dans le corps de *Culex pipiens*, de deux Hémosporidies des Rapaces nocturnes, *Haemoproteus noctuae*, et *Leucocytozoon ziemanni*, nous a fait entreprendre, en 1904, des recherches de vérification de ces faits nouveaux.

Nos premiers résultats ont été communiqués à la *Société de Biologie* et au *VI^e Congrès international de zoologie de Berne* (1904)². Nous apportons ici la suite de ces travaux.

Pour nous mettre à l'abri, autant que possible, des causes d'erreur, nous nous sommes placés sur le terrain expérimental.

Les expériences suivantes ont été faites à Alger, à une température oscillant entre 24° et 30°. Les Chouettes ont été gardées, dès le jour de leur arrivée, dans des cages grillagées. Les sujets d'expérience n'étaient considérés comme indemnes qu'après deux mois au minimum d'examen à résultat négatif.

Les *C. pipiens* servant à nos expériences sont tous nés au laboratoire, de larves provenant des mêmes gîtes qui nous fournissent des Moustiques depuis 1900.

*
* *

Nous avons examiné en 1906 le sang des Rapaces nocturnes suivants :

	<i>Plasmodium relictum.</i>	<i>Haemoproteus noctuae.</i>	<i>Leucocytozoon ziemanni.</i>	Filaire.
3 <i>Strix flammea</i> ...	1	3	»	»
2 <i>Syrnium aluco</i> ...	2	2	1	»
9 <i>Athene noctua</i> ...	2	8	3	2
14 au total	5	13	4	2

1. Generations-und Wirtswechsel bei *Trypanosoma* und *Spirochaete*. *Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte*, t. XX, f. 3, 1904, p. 387.

2. *C. R. Soc. de Biol.*, t. LVII, p. 164, 23 juillet 1904, et : Evolution des Hématozoaires de l'*Athene noctua*, d'après F. Schaudinn, *C. R. du VI^e Congrès intern. zool. Berne*, 1904, p. 384.

De plus 17 très jeunes *Athene noctua*, élevées depuis le moment où elles ont encore du duvet, ne montrèrent aucun parasite.

A noter que, comme les années précédentes, nous n'avons pas trouvé *Leucocytozoon ziemanni* chez *Strix flammea*, mais seulement chez *Athene noctua* et *Syrnium aluco*.

LEUCOCYTOZOON ZIEMANNI

I

ESSAI D'INFECTION PAR PIQURE DE *C. pipiens* NOURRIS SUR CHEVÊCHE INFECTÉE. RÉSULTAT NÉGATIF

a) En 1905.

Trois Chevêches (*Athene noctua*), conservées indemnes, depuis plus de deux mois, sous moustiquaire, sont piquées par des *C. pipiens* (10 à 12 chaque fois) qui, après avoir sucé du sang de Chevêche à *L. ziemanni*, ont été nourris trois fois sur des Canaris neufs.

Ces Chevêches restent indemnes.

b) En 1906.

Des *C. pipiens* nourris sur une Chevêche à *L. ziemanni* le 14 juillet, puis sur des Canaris normaux le 25 juillet, le 4 août, piquent le 16 août une Chevêche jeune, conservée indemne depuis 32 jours en cage grillagée. Elle reste indemne plusieurs mois.

II

ESSAI D'INFECTION PAR DES *C. pipiens* ISSUS DE MOUSTIQUES NOURRIS SUR CHEVÊCHE INFECTÉE. RÉSULTAT NÉGATIF

Une Chevêche, indemne pendant plus de deux mois sous moustiquaire, est piquée ensuite par des *Culex* nés d'œufs pondus par des *Culex* nourris sur une Chevêche à *L. ziemanni* : elle reste indemne jusqu'à sa mort (24 jours après l'inoculation).

III

ESSAI D'INFECTION PAR INOCULATION DU TUBE DIGESTIF DE *C. pipiens* NOURRIS SUR CHEVÊCHE INFECTÉE. RÉSULTAT NÉGATIF

a) *Inoculation de filtrats des organes broyés de Culex* (en raison de l'hypothèse de Schaudinn, émise p. 432 de son mémoire, sur le passage au filtre des petites formes).

17 *C. pipiens* nourris sur une Chevêche à *L. ziemanni* sont disséqués le 6 septembre 1906, leurs organes abdominaux et thoraciques mis en

suspension dans l'eau citratée, qui est filtrée à travers une bougie Chamberland F, sous la pression donnée par une poire en caoutchouc. Le *filtrat* est inoculé sous la peau d'une Chevêche neuve, conservée indemne depuis 1 mois 1/2, le *reliquat* sous la peau d'une autre Chevêche dans les mêmes conditions. Aucun résultat.

b) *Témoins.*

Douze *C. pipiens* nourris sur une Chevêche à *L. ziemanni* sont disséqués, à la fin de la digestion, le 8 septembre, et tous leurs organes inoculés à la seringue, sous la peau d'une Chouette conservée indemne depuis 1 mois et demi. Aucun résultat.

IV

ESSAI D'INFECTION PAR INOCULATION SOUS-CUTANÉE DE SPIROCHÈTES DE *C. pipiens*. RÉSULTAT NÉGATIF

En 1905.

Sur 74 *C. pipiens* ayant sucé du sang de Chevêche à *L. ziemanni*, on en



Fig. 1. — Glande de Malpighi de *Culex pipiens*, avec Spirochètes.

trouve 11, à la fin de la digestion, qui ont les glandes de Malpighi bourrées de Spirochètes, (voir fig. 1).

— Sur 18 *C. pipiens* et 1 *Stegomyia fasciata* ayant sucé du sang de Chevêche à *L. ziemanni*, puis du sang de Canari normal, on n'en trouve aucun avec des Spirochètes à la fin de la digestion.

— Sur 27 *C. pipiens* du même élevage, n'ayant sucé que du sang normal de Canari, aucun ne présentait de Spirochètes à la fin de la digestion.

— Une Chevêche, indemne pendant un mois sous moustiquaire, reçoit par l'inoculation sous-cutanée à la seringue le contenu des glandes de Malpighi infectées de Spirochètes de cinq des *C. pipiens* signalés plus haut. Elle reste indemne jusqu'à sa mort (21 jours après la dernière inoculation).

En 1906.

A. Sur 10 *C. pipiens* nourris sur un *Syrnium aluco*, chez lequel on n'a jamais vu, durant sa captivité (3 mois 1/2) de *L. ziemanni* (un autre *S. aluco* en a toujours montré), on en trouve trois qui, le 6 septembre, à la fin de la digestion, ont leurs glandes de Malpighi bourrées de Spirochètes en tout semblables à ceux de la fig. 1 et à ceux vus par nous en 1904 et 1905.

Les glandes de Malpighi de ces trois *Culex* sont inoculées à la seringue sous la peau d'une Chevêche neuve, conservée indemne depuis 1 mois 1/2. Aucun résultat.

B. Sur 18 *Culex* nourris le 22 septembre sur une Chevêche à *L. ziemanni* rares et *H. noctuae* nombreux, un seul présente, à la fin de la digestion, en même temps que les fins Trypanosomes dont il sera question plus loin, des Spirochètes.

L'inoculation à une Chevêche neuve, conservée indemne depuis 2 mois, ne donne aucun résultat.

C. Sur 8 *C. pipiens*, nourris le 24 septembre sur une Chevêche qui durant 3 mois 1/2 n'a montré que des *Haemoproteus noctuae* et des *Plasmodium relictum*, et jamais des *L. ziemanni*, un *Culex* présente, à la fin de la digestion, des Spirochètes.

L'inoculation à une Chevêche neuve, conservée indemne depuis plus de deux mois, ne produit aucun effet. L'inoculation, à une autre Chevêche indemne, du contenu digestif des *Culex* ne présentant rien, ne produit pas non plus de résultat.

D. Un *C. pipiens*, nourri sur une Chevêche à *H. noctuae*, puis sur un Pinson à *Haemoproteus*, présente à la fin de cette dernière digestion, le 26 septembre, dans son intestin, de nombreux Spirochètes à 2 ou 3 tours de spire lâches (donc bien différents des Spirochètes de la fig. 1). Ces Spirochètes sont inoculés à la seringue sous la peau d'une Chevêche neuve, conservée indemne depuis 2 mois. Aucun résultat.



Au point de vue expérimental, les recherches que nous poursuivons depuis trois ans pour la vérification des découvertes de Schaudinn sur les générations alternantes n'ont apporté

aucun fait venant à l'appui de son opinion sur le rôle de *Culex pipiens* comme second hôte de *Leucocytozoon ziemanni*.

Au point de vue morphologique, on peut considérer dans la description de Schaudinn :

1^o L'évolution de l'ookinète jusqu'au stade Spirochète. Nous n'avons pas revu cette évolution ;

2^o L'évolution des Spirochètes. Ici encore, il faut distinguer, ce que n'avait pas encore pu faire Schaudinn dans sa Note préliminaire : *a*), les petits Trypanosomes à forme spirochètienne, qui sont ceux qu'il décrit ; *b*), les Spirochètes vrais, bactériens.

a) Nous n'avons vu qu'une seule fois, chez un *Culex* nourri sur Chevêche à *L. ziemanni*, en 1903, des corps ressemblant à ceux figurés par Schaudinn, p. 431. fig. 17. sous les lettres *d*, *g* et *h*. Ces corps doivent être considérés sans doute comme des Trypanosomes très fins.

b) Les Spirochètes que nous avons observés nous ont toujours paru être des Spirochètes vrais, spiralés et mobiles, et les préparations colorées par les modifications de la méthode de Romanowsky ne nous ont jamais révélé chez eux de structure rappelant celle d'un Trypanosome.

Ce sont des formes spiralées de 3 à 8 tours de spire assez serrés, de 25 à 30 μ de long sur 4 μ de large. On les a trouvées très mobiles dans l'intestin moyen de *Culex* finissant de digérer du sang de Chouette infectée, ou de *Culex* finissant de digérer du sang d'Oiseaux neufs, mais nourris auparavant sur une Chouette infectée. On les trouve aussi, immobiles, réunis en énormes quantités dans les tubes de Malpighi de ces *Culex*. Lorsqu'on écrase ces tubes entre lame et lamelle, dans l'eau citratée, les Spirochètes libérés dans le liquide deviennent mobiles (fig. 2).

Nous avons remarqué que sur 92 *Culex* nourris sur des Chevêches à *L. ziemanni*, 42 (soit 45 %) montrèrent des Spirochètes.

Les centaines de *Culex* (provenant des mêmes gîtes), que nous avons disséqués depuis 1902, ne nous ont pas montré ces Spirochètes.

Toutefois, en 1906, se sont présentés les deux cas douteux suivants (voir plus haut) :

1. Un *Syrnium aluco*, n'ayant jamais présenté de *L. ziemanni* à l'examen microscopique, est piqué par 10 *Culex* : 3 ont des Spirochètes.

2. Une *Athene noctua*, n'ayant jamais présenté de *L. ziemanni*, est piquée par 8 *Culex* : 1 a des Spirochètes.

Mais il convient de rappeler que les *Syrnium aluco* et les

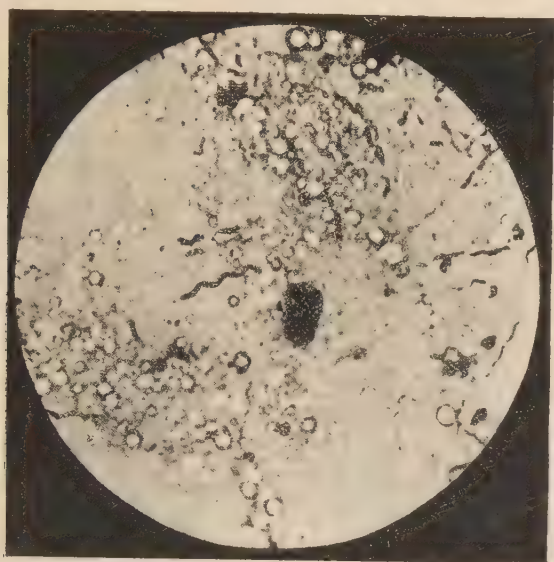


Fig. 2. — Spirochètes des glandes de Malpighi de *C. pipiens* (photographie).

Athene noctua sont sensibles à l'infection par *L. ziemanni* et que, d'autre part, le résultat négatif d'examens microscopiques du sang périphérique ne comporte pas, comme conclusion, l'affirmation de l'immunité de l'animal.

Enfin, chez un *Culex* nourri sur une Chouette à *Haemoproteus noctuae* et sur un Pinson à *Haemoproteus* (voir plus haut), nous avons trouvé un autre Spirochète bactérien (à 2 ou 3 tours de spire lâches).

Nous avons déjà vu, en 1901, des Spirochètes différents (1,5 à 4 tours de spire lâches, mesurant 8 μ ,5 à 17 μ de longueur, en moyenne 13 μ ,5) dans le tube digestif d'une larve d'*Anopheles maculipennis*¹.

1. *C. R. Soc. Biol.*, t. LX, 10 fév. 1906, p. 291.

Nous venons de trouver (mars 1907) dans l'intestin de larves et de nymphes de *Culex pipiens* et de larves de *Theobaldia spathipalpis*, provenant des mêmes gîtes qui nous fournissent nos Culicides à Alger, de nombreux Spirochètes mesurant de 15 à 25 μ de longueur, et de 5 à 10 tours de spire, ceux-ci parfois déroulés. La longueur de l'ondulation mesure 1 μ ,7 en moyenne, et son épaisseur 0 μ ,8 à 1 μ ,3.

Nous rappelons que L. Léger a vu des Spirochètes de 15 à 20 μ de longueur et de 4 à 5 courbures, dans l'intestin de larves de *Chironomus* (C. R. Ac. Sc., 2 juin 1902).

HÆMOPROTEUS NOCTUÆ

I

ESSAI D'INFECTION PAR DES TRYPANOSOMES DE *C. pipiens* AYANT PIQUÉ DES CHOUETTES A *H. noctuæ*. UN RÉSULTAT DOUTEUX.

Sur 28 *Culex* nourris sur des Chevêches à *H. noctuæ*, au mois de septembre, et disséqués à la fin de la digestion, 2 présentent dans la dernière portion de leur intestin moyen des Trypanosomes, soit mobiles, soit en boule à l'état de repos, en tout semblables à ceux que nous avons décrits dans des expériences analogues citées plus haut, et que nous avons rapportés aux formes décrites par F. Schaudinn. Longueur du corps sans le flagelle : 12 à 13 μ , largeur 2 μ ,5 à 3 μ . Dans nos très nombreuses dissections de Moustiques, nous n'avons pas plus retrouvé cette année que les années précédentes, les mêmes Trypanosomes chez des *Culex* n'ayant pas piqué des Chevêches à *H. noctuæ*.

Le contenu intestinal de chacun de ces deux *Culex* est inoculé à la seringue sous la peau de deux Chevêches conservées indemnes depuis plus de deux mois. Le sang de l'une de ces deux Chevêches nous montra, 5 jours après l'inoculation, une seule jeune forme endoglobulaire probable d'*Haemoproteus* : puis nous ne vîmes plus rien. L'autre Chevêche ne montra rien.

Témoins : L'inoculation sous-cutanée à trois Chevêches, indemnes, du corps broyé de 26 *Culex* n'ayant pas de Trypanosomes, ne produisit aucun résultat.

II

ESSAI D'INFECTION PAR L'INOCULATION DE CORPS DE *Culex* AYANT PIQUÉ DES CHEVÊCHES A *H. noctuæ* (Corps broyés, filtrés ou non filtrés). RÉSULTAT NÉGATIF.

A. Une dizaine de *Culex* ayant piqué, le 30 août, une Chevêche à *H. noc-*

tuæ nombreux, sont disséqués à la fin de la digestion, les organes broyés mis en suspension dans l'eau citratée, qui est filtrée à travers une bougie Chamberland F. Le *filtrat* est inoculé à une Chevêche neuve, le *reliquat* à une autre. Aucun résultat.

B. Une vingtaine de *Culex*, ayant piqué, le 6 septembre, une Chevêche à *H. noctuæ*, sont disséqués, et leurs organes broyés, passés à travers une bougie Chamberland. Le *filtrat* est inoculé à une Chevêche indemne, qu'il n'infecte pas. La Chevêche inoculée avec le reliquat meurt accidentellement.

ISSUE DES GAMÈTES DES HÉMATIES

Les *H. noctuæ* adultes entourent complètement le noyau de l'hématie. Nous avons assisté à l'issue des hématies, entre lame et lamelle, de ces formes recourbées sur elles-mêmes jusqu'à fermer l'anneau. On voit les extrémités du gamète, qui se

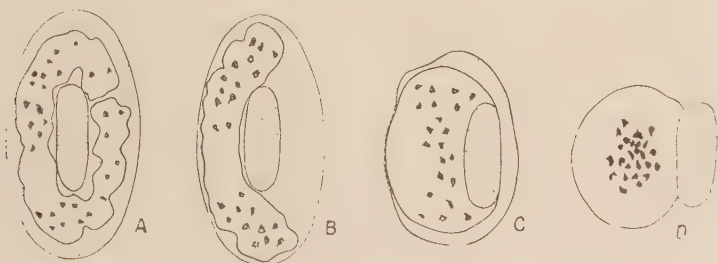


Fig. 3. — Issue des gamètes des hématies.

touchent; s'éloigner l'une de l'autre brusquement, le corps se rétracter très vite, en quelques secondes, autour du point central du parasite qui, devenant très gros, luxe en quelque sorte le noyau de l'hématie qu'il accole à l'autre bord de l'hématie, comme le ferait un *Plasmodium relictum*. L'hématie éclate alors, le gamète se trouve libre, sphérique, et reste encore souvent accolé au noyau de l'hématie. Le processus entier ne dure que quelques secondes.



Pour ce qui concerne *Haemoproteus noctuæ*, nous avons apporté au Congrès de Zoologie de 1904 ce qui nous semblait la preuve cruciale du rôle des *Culex* dans la propagation de ce parasite. L'étude que nous avons faite de l'*Haemoproteus* des Pigeons (voir plus loin), nous ayant montré que des infections à *Haemoproteus* peuvent avoir chez l'Oiseau une incubation supé-

rieure à un mois, fait ignoré jusqu'à présent, nous sommes obligés de réserver l'interprétation des résultats de nos expériences. Cette année nous n'avons pas eu de résultats positifs après l'inoculation aux Chouettes de Trypanosomes (sauf peut-être un cas d'infection légère).

Nous ferons cependant remarquer que dans les très nombreuses dissections que nous opérons depuis 6 ans (1900) de Moustiques provenant des mêmes gîtes, nous n'avons trouvé des Trypanosomes semblables à ceux décrits par F. Schaudinn que chez des *C. pipiens* ayant piqué auparavant des Chevèches, des Effraies ou des Petits-ducs à *H. noctuae* ¹.

Si les Trypanosomes du *Culex* n'ont pas de rapport avec les *H. noctuae*, on peut supposer que ceux-ci prennent, dans le corps de l'Insecte, une forme très petite, invisible aux microscopes ordinaires. Les expériences relatées plus haut n'apportent aucun fait à l'appui de cette idée d'un virus passant au filtre.

C. HEMOPROTEUS COLUMBÆ KRUSE 1892

(= *Halteridium* = *Haemamœba danilewskyi*, p. p.)

Le second hôte des Hémosporidies du genre *Haemoproteus* est resté inconnu jusqu'au moment où F. Schaudinn montra l'évolution, par générations alternantes, de l'*H. noctuae* dans le corps de *Culex pipiens*. Nous confirmâmes expérimentalement cette découverte en 1904.

Mais, nous étant occupés de l'*Haemoproteus* du Pigeon algérien, qui est extrêmement fréquent, nous ne pûmes jamais constater son évolution dans le corps des Moustiques algériens qui peuvent piquer le plus souvent les Oiseaux. De semblables résultats négatifs avaient été constatés par nos prédécesseurs, en Italie, et aux Indes (James) ².

TRANSMISSION PAR LE *Lynchia maura*.

Nous eûmes alors l'idée de poursuivre nos expériences, non avec des Moustiques, mais avec des Hippoboscides communs sur les Pigeons algériens, et que M. le Dr P. Speiser a bien

1. Pour la description de ces Trypanosomes, voir notre précédent travail : *V^e Congrès intern. de Zool.*, Berne, 1904, p. 386.

2. Malaria in India. *Sc. memoirs by the off. of the med. and. sanit. departm. of the Governm. of India*, n. s., n° 2, 1902.

voulu nous déterminer comme *Lynchia maura*, Bigot 1885¹. (Voir : planche VI.)

Bigot avait décrit cette espèce sous le nom de *Olfersia maura*² :

Antennis castaneis, flavido setosis; epistomate et vertice testaceis, fronte fusca, utrinque nitida; thorace fusco nigro, vix nitente, humeris scutelloque sordide fulvis; abdomine obscure infusato, segmento 2^o apice fulvo marginato; pedibus testaceis, femoribus superne parum infusatis, nigro parce setosis, posticis, externe, linea tenui, fuscana, notatis; alis fere hyalinis, venis, costali, longitudinalibus 1-4^{is}, omnino, 5^a, usque ad transversam 1^{am} nigram, nigro tinctis.

Les *Lynchia maura* parasitent surtout les jeunes Pigeons de 15 à 20 jours dont les plumes commencent à pousser. On les trouve fréquemment au nombre de 50 à 60 sur un Pigeon-neau. Ils sont par contre rares sur les Pigeons adultes. Les éleveurs savent que leur grand nombre rend malades et fait maigrir les Pigeons. En particulier les couveuses, agacées par la présence des Mouches, font de brusques mouvements qui cassent leurs œufs.

Les *Lynchia* sont toujours cachés dans le plumage, leur corps aplati leur permet de se glisser sous les plumes. Ils y sont à une température voisine de 42°. Ils s'envolent si les Oiseaux s'ébrouent fortement, ou sont pris à la main. Ils changent d'hôtes facilement. Leur vol est très rapide et rectiligne.

Les *Lynchia maura* paraissent ne pas pouvoir vivre sur d'autres Oiseaux que les Pigeons (voir plus loin l'expérience faite sur des Canaris). Ils meurent le plus souvent au bout de 48 heures de captivité loin des Pigeons.

La copulation des *Lynchia* a lieu au repos ou pendant le vol et dure fort longtemps, la femelle écarte les ailes pour permettre l'accès du mâle.

La puppe, ovoïde, est pondue blanche, avec une tache noire en forme d'étoile à 6 branches à un pôle. Elle devient complètement noire en une heure. Elle mesure 3 millimètres sur 2 millimètres et demi environ. (Fig. 4.)

Elle est pondue dans la poussière sèche des pigeoniers, jamais dans la colombine humide. En cage, les *Lynchia* recherchent pour pondre les endroits secs, et nous avons trouvé une fois une quinzaine de pupes entassées sur une petite corniche accidentelle d'un des montants de la cage. Dans la criblure de grains dont nous nourrissions nos Pigeons en Algérie, nous avons observé des graines végétales ressemblant à l'œil nu d'une façon frappante à des pupes de *Lynchia*. La distinction ne pouvait se faire qu'au microscope : la surface des pupes est marquée d'un très fin réseau à mailles hexagonales qui lui donne l'aspect d'un maroquin écrasé, tandis que la surface des graines est uniformément lisse. (Fig. 5.)

1. Nous devons à l'obligeance de plusieurs propriétaires algériens d'avoir pu nous procurer un grand nombre de ces Hippoboscides. Nous les remercions vivement ici, et en particulier M. Ricci, minotier à l'Agha, et son contremaitre M. Verdu, qui a mis le plus affable empressement à nous faciliter nos expériences.

2. Ann. Soc. entomol. de Fr., 6^e série, t. V., 1885, p. 237.



Fig. 4. — Puppe de *Lynchia maura* fraîchement pondue.

La pupa éclot au bout de 23 à 28 jours, lorsqu'elle est gardée à la température du laboratoire (24° à 30°). Des pupes gardées à la température de 42°, qui est celle que l'on constate sous le plumage des Pigeons, n'ont pas éclos, dans plusieurs expériences.



Fig. 5. — Réseau dessiné à la surface de la pupa de *Lynchia maura*.

Les *Lynchia maura* sont très souvent parasités par les œufs, les larves et les adultes femelles d'un Sarcoptide nouveau, appelé *Myialges anchora* par le Pr Trouessart¹. Ce Sarcoptide est plus voisin de ceux qui parasitent les Mammifères que de ceux qui parasitent les Oiseaux.

* * *

Les Pigeons dont nous sommes servis proviennent tous du marché de Paris : depuis de longues années, tous les Pigeons achetés par les laboratoires de l'Institut Pasteur se sont montrés indemnes d'*Haemoproteus*. Nos Pigeons étaient tenus, de plus, en observation pendant quelque temps, pour que nous puissions nous assurer de leur non-infection. La même cage n'a jamais servi à deux expériences. Toutes les cages étaient grillagées.

I. Le 20 août 1905, est instituée à Alger l'expérience suivante, avec 3 Pigeons parisiens tenus en observation depuis le 1^{er} février 1905 :

Dans une première cage grillagée sont placés : un Pigeon parisien indemne, un Pigeon algérien fortement parasité, une quinzaine de *Lynchia* :

Dans une seconde cage grillagée : un Pigeon parisien indemne, un Pigeon algérien fortement parasité, sans Hippoboscides :

Dans une troisième cage semblable : un Pigeon parisien indemne, témoin.

Le 8 octobre, le Pigeon parisien de la première cage montre dans son sang de jeunes *Haemoproteus* (de quelques μ de diamètre et sans pigment). Les jours suivants, les parasites grossissent et contiennent du pigment à partir du 12 octobre. L'infection continue normale.

Les Pigeons parisiens des deux autres cages restèrent indemnes.

II. Dans la cage grillagée d'un Pigeon parisien, isolé depuis le 25 octobre 1905, et conservé à Paris dans une étuve à 24°, sont lâchés, le 15 novembre, un *Lynchia*, le 24 novembre, 2 autres *Lynchia*, ces trois Diptères ayant été prélevés à Alger sur des Pigeons infectés. Le 6 février apparaissent quelques *Haemoproteus* dans le sang du Pigeon (infection restée faible).

III. Un Pigeon parisien indemne fait le voyage d'Alger à Paris, le 14 novembre 1905, dans une cage grillagée avec deux Pigeons voyageurs infectés et couverts de *Lynchia*, dont il n'est séparé que par une cloison non étanche. Les Pigeons voyageurs morts pendant le voyage sont quittés par les *Lynchia*. Le Pigeon parisien montre des *Haemoproteus* dans son sang, le 23 janvier 1906 (infection faible).

1. La description de *Myialges anchora* a paru dans les *C. R. de la Soc. de Biologie*, t. LXII, p. 443, 16 mars 1907.

IV. Trois Pigeons parisiens indemnes, isolés depuis le 7 février 1906, dans une cage grillagée, y reçoivent le 13 mai 3 *Lynchia* et le 14 mai 8 *Lynchia* capturés sur des Pigeons algériens infectés pour la plupart. Les 3 Pigeons parisiens sont reconnus infectés respectivement le 14 juin, le 25 juin et le 9 juillet.

V. Le 14 juin 1906, deux *Lynchia* pris sur un Pigeon infecté sont mis dans la cage grillagée de deux Pigeons parisiens indemnes : l'un de ces pigeons se montre infecté le 5 août, l'autre le 17 août.

VI. Le 14 juin, trois *Lynchia* de la même origine sont mis dans la cage grillagée de trois Pigeons parisiens indemnes : deux de ces Pigeons se montrèrent infectés le 5 août, le troisième ne fut jamais infecté. A noter que les 3 Mouches étaient mortes vers le début de juillet. Peut-être n'ont-elles pas piqué le troisième Pigeon ?

Ces dix résultats positifs permettent donc d'affirmer le rôle des "Lynchia maura" dans la propagation de l' "Hæmoproteus" du Pigeon¹.

Ayant été frappés de la longue incubation (c'est-à-dire du long intervalle entre la piqure des *Lynchia* et l'apparition des gamètes dans le sang périphérique), de tous les cas relatés ci-dessus, nous avons voulu obtenir un chiffre exact. Dans ce but nous avons procédé à l'expérience suivante :

VII. Le 14 août, 4 Mouches prélevées sur un Pigeon infecté sont mises dans la cage grillagée d'un premier Pigeon parisien indemne. Le 17 août (trois jours après), ces 4 Mouches sont retirées et mises dans la cage d'un deuxième Pigeon parisien indemne, dont elles sont retirées de nouveau 24 heures plus tard. Le premier Pigeon montre dans le sang périphérique les premiers très jeunes *Hæmoproteus* le 20 septembre, et le deuxième, le 24 septembre.

L'incubation de l'infection par les Lynchia a donc été chez un Pigeon, de 34 à 37 jours, et chez un autre de 38 jours.

On peut tirer un autre enseignement de cette expérience. Il est certain que les quatre premières Mouches ont toutes piqué le premier Pigeon indemne, car nous savons qu'un *Lynchia* vit rarement plus de 24 heures quand il est séparé du Pigeon. Or les *Lynchia* sont restés 3 jours dans la première cage.

On peut donc conclure que des Lynchia qui ont infecté un premier Pigeon, portent encore assez de virus pour en infecter un second. 4 jours après avoir quitté un Pigeon infecté.

Il est vrai que chez le second Pigeon l'incubation a été un

1. Il faut ajouter à ces dix cas positifs ceux qui sont rapportés ci-dessous. De plus, nous avons encore infecté plusieurs Pigeons, à Paris, durant l'hiver 1906-1907, avec des *Lynchia maura* envoyés d'Alger.

peu plus longue. On peut rapprocher ce durable pouvoir infectant de celui dont nous avons montré l'existence, dans ce même mémoire, chez les *Culex pipiens* infectés par le *Plasmodium relictum*.



Pas de transmission héréditaire de l'infection chez les Lynchia.

Nous nous sommes demandé si l'infection est héréditaire chez les *Lynchia*.

VIII. Dix-sept *Lynchia*, éclos de pupes pondues par des femelles sûrement infectées au laboratoire, sont mis du 7 juillet au 2 octobre dans la cage de deux Pigeons parisiens indemnes. Ni l'un ni l'autre de ces Pigeons ne fut infecté.

Il est donc fort douteux que l'infection des *Lynchia* passe à leur descendance.



Non-infection des Pigeons par ingestion des Lynchia.

Ayant remarqué que les Pigeons infestés de *Lynchia* les pourchassent à coups de bec, nous nous sommes demandé s'ils pouvaient s'infecter par ingestion de Mouches.

IX. Du 26 juillet au 9 août, nous fîmes avaler 33 *Lynchia* vivants, provenant de Pigeons infectés, à un Pigeon parisien indemne, qui ne devint jamais infecté.

Ce mode d'infection n'est donc pas probable.



ÉVOLUTION D'*Haemoproteus Columbae* CHEZ *Lynchia maura*.

On voit assez facilement les ookinètes dans la dernière portion de l'intestin moyen de la Mouche, où le sang est en partie digéré, et le noyau des hématies seul encore reconnaissable.

L'ookinète mesure de 20 à 23 μ de longueur sur 2 μ 5 à 3 μ de largeur. Le pigment est ramassé dans le tiers postérieur. Le noyau n'est pas tout à fait au milieu, mais un peu en arrière (son épaisseur = 2 μ 5, sa distance de l'extrémité antérieure = 10 μ , de l'extrémité postérieure = 8 μ). Le mouvement se fait dans le sens de la longueur, la partie pigmentée, comme on vient de le dire, étant postérieure. Cette ookinète est le plus souvent recourbée : l'aspect le plus fréquent est celui d'une crosse. (Voir Planche VII, fig. 6 et 7).



Nous n'avons pas réussi à suivre l'évolution ultérieure du parasite chez le *Lynchia*. Pour nous assurer que les préparations, dans lesquelles le microscope ne nous faisait rien reconnaître, contenait le virus, nous avons institué les expériences suivantes :

X. Un *Lynchia* prélevé sur un Pigeon très infecté est disséqué le 27 juillet, les organes abdominaux et thoraciques sont mis en suspension dans de l'eau citratée (vérification au microscope) et inoculés à la seringue *dans la veine* d'un Pigeon parisien neuf. Les premiers très jeunes *Haemoproteus* se montrent dans son sang périphérique le 25 août 1906.

Une inoculation intra-veineuse analogue est faite le 5 novembre à 5 Pigeons. Ils sont tous infectés le 3 décembre, et le 22 novembre à un autre Pigeon, qui montre des gamètes le 20 décembre.

XI. Le 5 novembre, en même temps que des Pigeons sont inoculés dans les veines avec le broyage de corps de *Lynchia* infectés, un autre Pigeon est inoculé *sous la peau* avec le même broyage. L'infection suit chez lui le même cours que chez les premiers, après une incubation de durée équivalente.

Les préparations dans lesquelles nous ne reconnaissons pas une évolution ultérieure des ookinètes contenaient donc un virus inoculable au Pigeon.

De plus, nous voyons que l'incubation de l'infection donnée par le virus inoculé dans les veines ou sous la peau est de 28 ou 29 jours, chez ces 8 Pigeons. On verra plus loin (expériences XII, XIII et XIV), trois autres cas d'incubation de 28 jours.

(Nous devons noter 2 autres cas, en automne 1906, où l'incubation a été de 45 jours.)

Pour faire suite à l'expérience ci-dessus, nous avons recherché si ce virus n'entraînait pas dans la catégorie des virus dits invisibles, passant aux filtres :

XII. Quatorze *Lynchia* pris sur un Pigeon fortement parasité sont disséqués le 9 août, leurs organes écrasés et mis en suspension dans l'eau citratée, qui est filtrée à travers une bougie Chamberland F par pression à l'aide d'une poire en caoutchouc. Le filtrat est inoculé dans les veines à un premier Pigeon parisien neuf, le reliquat à un second et à un troisième Pigeons parisiens neufs. Ce troisième seul se montra infecté le 6 septembre (28 jours d'incubation).

XIII. Deux Mouches prélevées sur un Pigeon très infecté sont disséquées le 26 août, leurs organes écrasés mis en suspension dans de l'eau citratée qui est filtrée comme ci-dessus à travers une bougie Chamberland F. Le filtrat est inoculé dans les veines d'un premier Pigeon parisien neuf, le reliquat dans les veines d'un second Pigeon parisien neuf. Ce second Pigeon seul

montre les premiers jeunes *Haemoproteus* le 23 septembre (28 jours d'incubation).

Il est donc probable que le virus ne peut pas traverser la bougie Chamberland F (2 filtrats ne sont pas infectants, 2 reliquats sur 3 sont infectants).

XIV. Trois essais de filtration à travers des *bougies Chamberland spéciales*, à débit plus fort que celui des précédentes, furent ensuite faits : le filtrat des corps broyés de 3 *Lynchia* infectés à travers une bougie spéciale F n° 475, fut inoculé à 2 Pigeons. Le filtrat obtenu à travers une bougie spéciale H n° 450 fut inoculé à un autre Pigeon. Enfin une goutte du liquide obtenu par le broyage fut inoculé à un Pigeon témoin. Celui-ci montra au bout de 28 jours de nombreux gamètes dans son sang périphérique.

Les trois premiers Pigeons, surtout les deux premiers, montrèrent, au bout de quelques semaines, de petits granules dans leurs hématies, ressemblant à de très jeunes *Haemoproteus*, mais jamais de gamètes bien caractérisés.

Nous avons refait les mêmes expériences avec des bougies Berkefeld.

XV. Le 7 septembre, dix *Lynchia* pris sur un Pigeon infecté sont disséqués, leurs organes écrasés mis en suspension dans l'eau citratée qui est filtrée à travers une bougie Berkefeld. Le filtrat est inoculé dans les veines d'un premier Pigeon parisien neuf, le reliquat dans les veines d'un deuxième Pigeon parisien neuf. Le 13 octobre (36 jours d'incubation) de très jeunes formes d'*Haemoproteus*, rares, apparaissent dans le sang périphérique du premier Pigeon. (Planche VII, fig. 1). Elles augmentent de volume les jours suivants, en restant rares, puis aucune forme parasitaire n'est vue. On verra plus loin ce que l'on peut penser de ce phénomène¹.

1. Pendant les quelques jours où nous avons vu de très jeunes *Haemoproteus* chez ce Pigeon, nous avons aussi trouvé, dans les mêmes préparations de sang, d'assez nombreux *Herpetomonas* (figurés dans la Planche VII fig. 9 et 10).

Leur corps, étroit et effilé, est coloré en rose pâle par le Romanowsky et mesure de 17 μ à 22 μ de longueur, sur 1 μ 5 environ de largeur. Le flagelle, également rose pâle, et sans membrane ondulante, mesure de 19 μ à 35 μ de longueur. Le noyau, allongé, n'occupant pas toute la largeur du corps, mesure de 5 à 7 μ de longueur et est situé à 6 à 7 μ de l'extrémité postérieure du corps. Le centrosome, gros, sphérique, et plus fortement coloré que le noyau, est situé à 3 μ 5 en avant du noyau.

Ces *Herpetomonas* n'ont pas été retrouvés depuis cette époque dans le sang de ce Pigeon (mars 1907).

En raison de leur aspect général, nous nous sommes demandé si ces *Herpetomonas* n'étaient pas des spermatozoïdes ayant passé dans le sang du Pigeon sous l'influence d'une cause inconnue. Nous avons donc coloré par la même méthode des spermatozoïdes de Pigeon, en ayant soin de mettre les spermatozoïdes en contact avec du sang de Pigeon, avant la coloration. Celle-ci laisse les queues des spermatozoïdes incolores, tandis qu'elle colore les flagelles des *Herpetomonas*. La tête du spermatozoïde mesure en moyenne 17 μ (formes géantes = 27 μ), est colorée d'une façon uniforme par les colorants nucléaires, et, comme on le sait, ne présente pas de pièce moyenne. La queue du spermatozoïde mesure 85 μ , tandis que le flagelle de l'*Herpetomonas* ne dépasse pas 35 μ .

Le second Pigeon reste indemne.

D'autres filtrats obtenus à travers une bougie Berkefeld furent encore inoculés : le 25 octobre à un Pigeon, le 5 novembre à deux autres Pigeons. Au bout d'un mois environ, les hématies présentèrent de petits granules, pendant quelques jours, mais jusqu'en février 1907, les gamètes ne sont pas apparus.

*En résumé, le virus a passé, une seule fois sur quatre essais, par filtration à travers une bougie Berkefeld. Cet unique résultat positif ne permet de tirer aucune conclusion pour le moment. A noter l'apparition passagère de granules intraglobulaires ressemblant à de très jeunes *Haemoproteus*, chez les Pigeons inoculés avec des filtrats du virus.*



ÉVOLUTION D'*Haemoproteus Columbae* CHEZ LE PIGEON.

GUÉRISON SPONTANÉE.

En raison de la longue incubation de l'infection chez le Pigeon : 28 à 29 jours par inoculation sous-cutanée ou intraveineuse, 34 à 38 jours par infection par piqure du *Lynchia*, nous avons pensé qu'il y aurait lieu de chercher si le virus n'évoluait pas sous une forme particulière dans les organes internes du Pigeon. Cette idée était corroborée par ce fait que l'on ne connaît que des formes sexuées dans le sang périphérique des Pigeons. Nous n'avons encore rien vu dans nos examens microscopiques, et les expériences suivantes ne nous ont donné aucun renseignement :

XVI. — Le 1^{er} septembre, du sang périphérique d'un Pigeon très infecté est injecté tel quel dans les veines d'un Pigeon parisien neuf. Le sang du même Pigeon, dilué dans plusieurs fois son volume d'eau citratée, filtré à travers une bougie Chamberland F, est injecté dans les veines d'un second Pigeon parisien neuf : aucun résultat.

XVII. — Le même Pigeon infecté étant sacrifié, on inocule la moitié de sa rate dans le péritoine d'un premier Pigeon parisien neuf; l'autre moitié, mise en suspension, filtrée à travers une bougie Chamberland F, est inoculée dans le péritoine d'un second Pigeon neuf : aucun résultat.

Les très jeunes *Haemoproteus* qui apparaissent à l'intérieur des hématies de Pigeons après une si longue incubation ne mesurent pas plus de 1 à 2 μ de diamètre. Ils sont de forme

Les spermatozoïdes des *Lynchia maura* ont une tête ressemblant à celle des spermatozoïdes de Pigeon, et une queue beaucoup plus étroite et plusieurs fois plus longue.

Il semble donc bien que ces *Herpetomonas* sont des parasites du Pigeon. Celui-ci toujours vécu en cage grillagée.

triangulaire, quadrilatérale ou ronde, et situés en un point quelconque du protoplasma. Trois ou quatre jours après leur apparition, ils ont grandi et mesurent $8\ \mu$ environ dans leur plus grande longueur. Ils commencent alors à contenir du pigment. Leur forme est à ce moment très irrégulière, les bords déchiquetés rappellent parfois l'aspect classique d'*Haemoproteus noctuae*. Ils coiffent parfois une des extrémités de l'ellipse du noyau, au lieu d'être allongés suivant la plus grande dimension de l'hématie, comme les gamètes adultes. Très souvent, plusieurs jeunes formes sont dans une même hématie. Elles prennent faiblement la couleur. Les très jeunes formes, colorées, ressemblent beaucoup aux petites formes annulaires du *Plasmodium* de l'homme : bague bleue à chaton rouge. Les formes moyennes ont le protoplasma coloré par bandes bleues et incolore par places. On trouve tous les intermédiaires jusqu'à l'aspect bien connu des gamètes adultes. Voir Planche VII, fig. 1, 2, 3, 4, 5.

FAIT CONSTANT ET REMARQUABLE : *Au fur et à mesure que les jeunes formes grandissent, elles deviennent plus rares dans le sang périphérique.*

C'est à ce phénomène que nous faisons allusion à propos de l'expérience xv. Nous avons vu les jeunes formes assez nombreuses seulement pendant 3 jours, puis ayant dû suspendre l'examen pour des raisons indépendantes de notre volonté, nous ne les avons plus retrouvées huit jours plus tard, alors que les formes auraient dû devenir adultes. Dans tous nos autres cas (inoculation de virus non filtré ou piqure de *Lynchia*) les jeunes formes étaient au début très nombreuses ou extrêmement nombreuses, souvent plusieurs dans une hématie, toujours plusieurs par champ d'immersion ; dans les huit jours qui suivaient, les formes adultes n'apparaissaient plus que peu nombreuses ou rares.

Dans les mois suivants, les Pigeons étant tenus toujours à l'abri des réinfections, les gamètes devenaient parfois très rares.

Il y a ainsi souvent guérison spontanée, le plus bel exemple est le suivant :

XVIII. — Un Pigeon inoculé dans les veines le 26 août 1906 avec le broyage d'un *Lynchia* infecté montre les premiers très jeunes *Haemoproteus*

dans son sang le 23 septembre. Le 29 septembre les gamètes sont presque adultes. Le 5 octobre ils sont adultes, mais peu nombreux, le 23 octobre ils ne sont plus que rares. A partir du 1^{er} novembre jusqu'à notre dernier examen (février 1907) on ne les trouve plus.

D'autre part : *le degré d'infection d'un Pigeon est généralement en rapport avec le nombre de Mouches qui l'ont piqué ou qu'on lui a inoculées.*

*
* *

ACTION DE LA QUININE

L'observation de la guérison spontanée nous a donné l'idée d'expérimenter l'action de la quinine sur *Haemoproteus columbae*, dans le but de guérir plus vite les Pigeons.

Nous nous sommes servis d'une solution de bichlorhydrate de quinine à 6 pour 1000 dans l'eau distillée (1 c.c. contenant 6 milligrammes de sel), et nous avons voulu connaître d'abord la dose minima mortelle.

XIX. — Le 10 août, un Pigeon adulte à *Haemoproteus* non rares reçoit sous la peau 48 milligrammes de quinine. Le 11, il va bien, les *Haemoproteus* sont encore « non rares ». Il reçoit sous la peau 128 milligrammes. Il meurt en quelques minutes, dans des convulsions. A l'autopsie : organes congestionnés. Avant la mort, l'examen du sang avait montré que le pigment des gamètes était plus dispersé que normalement, leur colorabilité était diminuée.

XX. — Un Pigeon adulte, à *Haemop.* nombreux, reçoit sous la peau les 13, 14, 15, 17 août, 48, 48, 66, 90 milligrammes. Il meurt 20 minutes après cette dernière injection, dans des convulsions. Durant ces 4 jours les *Haemoproteus* n'avaient pas été influencés par la médication (comparaison avec un Pigeon témoin).

Nous avons donc résolu de nous en tenir à la dose de 60 milligrammes, comme étant proche de la dose mortelle.

XXI. — Un Pigeon reconnu infecté le 5 août a de nombreux *Haemoproteus* jusqu'au 5 septembre. A cette date, il reçoit sous la peau 60 milligrammes de quinine. Le 10 septembre les parasites sont encore nombreux : 2^e injection de 60 milligrammes. A partir du 22 septembre les parasites ne sont plus que rares ou non rares, 3^e injection le 22 septembre, 4^e le 25 octobre. Les *Haemop.* subsistant toujours non rares (dernière observation : février 1907).

XXII. — Un Pigeon reconnu infecté le 17 août n'a jamais eu que de rares gamètes jusqu'au 10 septembre. A cette date il reçoit pour la première fois 60 milligrammes de quinine sous la peau, à partir du 22 septembre on ne trouve plus de parasites dans son sang. Il reçoit une 2^e et une 3^e injection les 22 septembre et 25 octobre. Réinoculé dans les veines avec le broyage du corps d'un *Lynchia* le 5 novembre, il montre à partir du 5 décembre une faible quantité de gamètes dans son sang périphérique, et n'en montre plus à partir de fin janvier.

XXIII. — Un Pigeon reconnu infecté le 23 juin 1907 a de nombreux gamètes dans le sang périphérique jusque vers le milieu d'août, ils deviennent alors « rares » « ou « non rares ». Il reçoit une injection de quinine le 22 septembre (60 milligrammes) une 2^e le 25 octobre, le nombre de gamètes ne change pas. (février 1907).

Son témoin, reconnu infecté le 9 juillet a des gamètes assez nombreux jusque vers le milieu d'août. Ils deviennent rares à partir de ce moment. A partir du 25 octobre, ils redeviennent assez nombreux.

L'action de la quinine se montre nulle dans les expériences XXI et XXIII. La résistance du Pigeon dans l'expérience XXII peut être attribuée à une propriété individuelle autant qu'à la quinine car nous avons noté plus haut qu'un certain nombre de Pigeons guérissent sans traitement de leur infection. (Voir observations XVIII.)

L'expérience XXII nous montre de plus qu'un Pigeon paraissant guéri de son infection n'a pas résisté à une nouvelle inoculation, mais a guéri rapidement de cette deuxième infection.



EXPÉRIMENTATION AVEC D'AUTRES OISEAUX

Nous avons essayé d'infecter des Canaris par la piqure de *Lynchia maura*.

XXIV. — Deux *Lynchia maura* pris sur un Pigeon très infecté sont mis dans la cage grillagée de deux Canaris le 13 août à 5 heures du soir; on les observe à fréquentes reprises. A aucun moment, ils ne se jettent sur les Canaris; le lendemain une Mouche meurt. Au bout de 24 heures on enlève l'autre Mouche qui ne s'est jamais posée sur les Canaris.

Nous pensons que cet exclusivisme des Lynchia maura impose la conception de la diversité des espèces d'Haemoproteus qui infectent les différents Oiseaux, si du moins les autres Hippoboscides d'Oiseaux sont aussi exclusifs. En tout cas, il est nécessaire de faire une espèce particulière de H. columbae.

A défaut de la piqure du *Lynchia*, nous avons inoculé à la seringue, sous la peau, un Canari, avec comme témoin un Pigeon : résultat négatif. Dans une autre expérience, une Poule fut inoculée dans les veines : résultat négatif.

XXV. — Le 26 septembre deux Mouches prélevées sur un Pigeon très infecté sont disséquées, le broyage est mis en suspension, inoculé sous la peau d'un Canari neuf. Celui-ci n'est pas infecté.

XXVI. — Une Poule inoculée dans les veines le 5 novembre avec le broyage de *Lynchia* infectés n'est pas infectée. Les Pigeons témoins, inoculés de même, sont tous infectés.



HAEMOPROTEUS DU MOINEAU PÈLERIN D'ALGERIE

Presque tous les Moineaux des campagnes algériennes que nous avons examinés étaient infectés par un *Haemoproteus*, dont les gamètes sont en général fréquents dans le sang périphérique; la plupart sont infectés aussi par des *Plasmodium relictum* (*Proteosoma*) et des Filaires. Nous ne nous occuperons, dans ce qui suit, que de l'*Haemoproteus*.

Les caractères morphologiques de ses gamètes rappellent ceux d'*Haemoproteus noctuae* par la dentelure et l'irrégularité de leurs bords.

Nous avons recherché si le second hôte de cet *Haemoproteus* est le Moustique qui pique le plus souvent les Oiseaux : *Culex pipiens*. Quelques expériences ont eu lieu aussi avec le *Theobaldia spathipalpis*, dont quelques-uns ont piqué une première fois nos Oiseaux, mais jamais une seconde fois.

On pouvait chercher si l'évolution hypothétique de l'*Haemoproteus* du Moineau chez le *Culex* suivait l'un des deux modes connus pour d'autres *Hémosporidies*.

A. Comme *Plasmodium relictum*, les sporozoïtes passant dans les glandes salivaires de l'Insecte environ une semaine après la piqure (à 22-25°).

B. Comme *Haemoproteus noctuae*, d'après Schaudinn, l'évolution de la génération alternante n'étant terminée chez l'Insecte qu'après plusieurs « nourritures ».

A. *Canaris sujets piqués par des Moustiques ayant piqué plus de 8 jours auparavant un Moineau. Résultat négatif.*

I. — Un Canari neuf est piqué le 22 mai par 58 *Culex pipiens* ayant piqué le 9 mai (11 jours avant), un Moineau très infecté, 0 résultat.

II. — Un Serin neuf est piqué le 30 mai par 18 *C. pipiens* ayant piqué le 22 mai (8 jours avant) un Moineau très infecté, 0 résultat.

III. — Un Canari est piqué le 7 juin par 22 *C. pipiens* ayant piqué le 22 mai (16 jours avant) un Moineau très infecté, 0 résultat.

IV. — Un Serin est piqué le 25 juillet par 10 *C. pipiens* ayant piqué le 19 juin (36 jours avant) un Moineau très infecté, 0 résultat.

B. *Canaris sujets piqués par des Moustiques ayant piqué auparavant : 1° un Moineau infecté, puis 2° un Canari neuf. Résultat négatif.*

V. — Un Canari neuf est piqué le 7 juin par 36 *C. pipiens* déjà nourris :

1^o sur un Moineau infecté: 2^o sur un Canari neuf (huit jours d'intervalle entre chaque piqure représentent la durée normale de la digestion). 0 résultat.

VI. — Un Canari neuf est piqué le 24 juin par 12 *C. pipiens* dans ces conditions. 0 résultat.

VII. — Un Canari neuf est piqué le 25 juillet par 15 *C. pipiens* dans ces conditions. 0 résultat.

VIII. — Un Canari neuf est piqué le 8 août par 11 *C. pipiens* dans ces conditions. 0 résultat.

IX. — Un Serin neuf est piqué le 16 août par 3 *C. pipiens* dans ces conditions. 0 résultat.

C. Canaris, sujets piqués par des Moustiques ayant piqué auparavant : 1^o un Moineau infecté: 2^o un premier Canari neuf; 3^o un deuxième Canari neuf. Résultat négatif.

X. — Un Canari neuf est piqué le 23 juin par 4 *C. pipiens*, dans ces conditions. 0 résultat.

XI. — Un Canari neuf est piqué le 23 juillet par 15 *C. pipiens* dans ces conditions. 0 résultat.

XII. — Un Canari neuf est piqué le 8 août par 2 *C. pipiens* dans ces conditions. 0 résultat.

XIII. — Un Canari neuf est piqué le 16 août par 2 *C. pipiens* dans ces conditions. 0 résultat.

L'insuccès des 13 expériences envisageant les deux modes possibles, par analogie, de l'évolution de l'*Haemoproteus* du Moineau dans le corps de *C. pipiens*, peut être rapproché de l'insuccès semblable qui a marqué tous nos essais de transmission de l'*Haemoproteus* du Pigeon par le *C. pipiens*. Si l'on considère, au contraire, le succès des tentatives de propagation de l'*H.* du Pigeon par le *Lynchia maura*, on peut conclure qu'il est très probable que l'« *Haemoproteus* » du Moineau, et en général toutes les différentes espèces d'« *Haemoproteus* » des Oiseaux (sauf probablement *H. noctuae* ont comme second hôte des *Hippoboscides*, dont on connaît l'existence si fréquente sur les Oiseaux.

*
* *
*

HAEMOPROTEUS DU VERDIER

Un Verdier, *Passer chloris*, infecté par un *Haemoproteus*, est gardé dans une cage depuis 3 ans (1903-1906) en compagnie de Canaris qui ne se sont jamais infectés.

Après 3 ans, ce Verdier, mis à l'abri de toute chance de réinfection, est encore infecté et à peu près au même degré.

D. TRYPANOSOME DE L'HIRONDELLE

Nous avons vu à l'état frais, plusieurs fois depuis 1903, dans le sang d'Hirondelles d'Algérie, un Trypanosome *toujours très rare*. (Hirondelles capturées dans les 3 départements : plaine de la Macta, plaine de la Mitidja, vallée du Sébaou, en Kabylie, plaine de Bougie, Hauts-Plateaux de Sétif.)

Ce Trypanosome mesure à l'état frais $22\ \mu$ de longueur sur $4\ \mu$ environ de largeur. L'extrémité postérieure est pointue et se tord de tous côtés assez vivement. La membrane ondulante est large et apparaît tantôt à droite, tantôt à gauche du corps pendant les mouvements du flagelle. Le Trypanosome se déplace le flagelle en avant, et est capable de quitter le champ du microscope.

Jamais nous n'avons pu retrouver sur les préparations colorées les Trypanosomes vus à l'état frais.

Dans l'impossibilité où nous étions de recourir à la méthode expérimentale par inoculation à des animaux de même espèce, nous avons essayé de cultiver ce Trypanosome pour pouvoir l'étudier.

Le 9 mai 1906, le sang de 12 Hirondelles de l'Habra estensemencé dans autant de tubes de gélose au sang de Lapin préparé selon la formule de Novy et Mac-Neal (mais sans défibriner le sang). A l'examen microscopique aucune de ces Hirondelles ne présentait de parasite dans le sang.

Un seul de ces tubes donne une culture de Flagellés qui fut réensemencée les 6 juin et 11 juin (2^e culture).

Une 3^e culture fut faite le 23 juin, une 4^e le 7 juillet, une 5^e le 4 août, une 6^e le 30 août, une 7^e le 1^{er} octobre, une 8^e culture le 11 octobre. Un ensemencement opéré avec la 8^e culture par le Dr Mathis sur son milieu modifié¹ lui donna une 9^e culture aussi abondante que les précédentes. Le Dr Mathis en est, le 5 février 1907, à sa 15^e culture.

La multiplication est rapide en milieu de culture et devient apparente dès le 2^e ou le 3^e jour après l'ensemencement.

A l'état frais, les cultures montrent le développement des Trypanosomes sous forme d'*Herpetomonas* : ceux-ci sont de différentes tailles, très mobiles, ils traversent le champ du microscope le flagelle en avant. Chez les grosses formes fuselées, le

1. C. R. Soc. Biol., t. LXI, 8 déc. 1906, p. 350.

corps se déplace tout d'une pièce, la membrane ondulante et le flagelle seuls s'agitent. Chez les petites formes le corps entier se tord pendant la marche. Les grandes formes présentent parfois des aspects de division binaire longitudinale égale. Dans les vieilles cultures, on trouve surtout de nombreuses formes en boules, immobiles, avec un flagelle très long qui seul s'agit, parfois très faiblement.

Enfin on rencontre de nombreuses rosaces de 6 à 15 *Herpetomonas* fuselés et ayant tous leur flagelle dirigé vers le centre.

Ce qui frappe le plus dans l'aspect de ces *Herpetomonas*, ce sont les granulations assez grosses qui sont toutes contenues en général dans la moitié postérieure du corps. La membrane ondulante se voit très nettement. Les grandes formes libres mesurent de 10 à 20 μ (une fois 34 μ) (17 μ en moyenne) de longueur, sur 3 à 4 μ de largeur en moyenne (parfois 6 μ); le flagelle n'est pas mesurable à l'état frais.

Les formes rondes, de 3 à 16 μ de diamètre, sont remplies de granulations plus grosses que celles des formes fuselées.

Préparations colorées. — Les formes fuselées, qui sont les plus nombreuses dans les cultures en pleine évolution, mesurent 20 μ de longueur sur 2 à 3 μ de largeur; la portion libre de leur flagelle atteint en général la même longueur que le corps : 17 μ à 25 μ . Le noyau, d'un diamètre moyen de 3 μ à 3 μ 5, est situé tangentiellement à la ligne médiane transversale, en avant de cette ligne. Le centrosome, assez gros et toujours bien coloré, est très près de la partie antérieure du noyau et lui est même le plus souvent accolé. (Voir planche VII, fig. 11 et 12.)

Comparaison avec les autres Trypanosomes des Oiseaux.

Quelques-uns de ces Trypanosomes ne sont connus que par leurs caractères morphologiques dans le sang des Oiseaux. Leurs dimensions ne répondent pas à celles du Trypanosome de l'Hirondelle¹ :

T. Johnstoni. Dutton et Todd, 1903 : 36 à 38 μ sur 1 μ 4 à 1 μ 6.

2^e *T. de Gambie*. Dutton et Todd, 1903 : 32 μ 5 sur 8 μ .

T. du Pigeon. Hanna 1903 : 45 à 60 μ sur 6 μ à 8 μ .

T. du Corbeau. Ross et Hanna : 40 à 56 μ sur 3 μ à 4 μ 8.

T. du Milan. Donovan : 34 μ sur 3 μ à 3 μ 5.

1. THIROUX. Recherches morphologiques et expérimentales sur *T. vaddae* Ann. Inst. Past., t. XX, fév. 1905.

T. polyplectri Vassal¹ : 46 μ sur 5 μ .

D'autre part, les caractères cultureux des Trypanosomes des Oiseaux qui ont été cultivés jusqu'ici sont différents de ceux du Trypanosome de l'Hirondelle² :

T. avium (Danilewsky, N. et Mac-N. *emend.*) revêt en culture des formes spirochéliennes tout à fait spéciales.

T. mesnili (N. et Mac N.), qui mesure dans le sang 50 μ sur 8 μ (dimensions doubles de celles de *T.* de l'Hirondelle) forme en cultures de très grandes rosaces; le corps entier des *Herpetomonas* est granuleux.

T. laverani (N. et Mac N.) a une culture à évolution très lente, le corps entier est granuleux et contient un bâtonnet terminal à l'extrémité postérieure, le centrosome est en avant du noyau.

Le type (4) de N. et Mac N. ne contient en culture que de très fines granulations; sa longueur n'est que de 15 μ sur 3 μ de largeur.

Le type (4a) des mêmes auteurs ne montre en culture que très rarement des rosaces, son centrosome est très gros (1 μ à 1 μ 3) et le noyau peu volumineux (2 μ).

T. paddae (Laveran et Mesnil) montre en culture, d'après Thiroux, des rosaces où les flagelles sont dirigés vers la périphérie. Le centrosome est entre le noyau et l'extrémité antérieure.

Le Trypanosome de l'Hirondelle se caractérise surtout, dans ses cultures, par les grosses granulations n'occupant en général que la moitié postérieure du corps, le centrosome très rapproché de la partie antérieure du noyau auquel il est souvent accolé, la longueur du flagelle libre, la fréquence des rosaces constituées par un petit nombre d'éléments, et enfin la rapidité de la culture.

Ces caractères nous paraissent suffisants pour distinguer le *T.* de l'Hirondelle des autres *T.* d'Oiseaux et en faire une espèce nouvelle, pour laquelle nous proposons le nom de *Trypanosoma mathisi*, en l'honneur du Dr Mathis, qui a apporté une très pratique modification au milieu de Novy et Mac Neal pour la culture des Trypanosomes³.

1. VASSAL. Sur un nouveau Trypanosome aviaire. *C. R. Soc. Biol.*, t. LVIII, 17 juin 05, p. 1014.

2. Voir F. G. NOVY et W. J. MAC-NEAL : On the Trypanosomes of Birds, *Journ. of infect. diseases*, t. II, no 2, 1^{er} mars 1905, et THIROUX, *loc. cit.*

3. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXI, 8 déc. 1906, p. 550.

Inoculation.

La vie des Hironnelles en captivité étant très précaire, nous avons inoculé toute l'eau de condensation d'un tube de culture contenant de très nombreux *Herpetomonas*, le 23 juin 1906, sous la peau de deux Serins, sans aucun résultat.

EXPLICATION DES PLANCHES VI ET VII

-
- Pl. VI. — *Lynchia maura*. Second hôte d'*Haemoproteus columbae*.
Pl. VII. — 1. — Très jeune *Haemoproteus columbae*, dans le sang du Pigeon. Expérience d'infection par un filtrat.
— 2-3-4-5. — *Haemoproteus columbae* d'âges croissants.
— 6-7. — Ookinète de l'*H. columbae*, dans l'estomac du *Lynchia maura*.
— 8. — Globule rouge normal, pour montrer les dimensions de l'ookinète.
— 9-10. *Herpetomonas* du sang du Pigeon.
Toutes les figures ci-dessus ont été dessinées à la même échelle.
— 11-12. — *Trypanosoma mathisi* de l'Hirondelle, en culture. Forme ronde et forme effilée.
-

ÉTUDES SUR LA MORVE EXPÉRIMENTALE DU COBAYE

PAR MAURICE NICOLLE

(COMPLÉMENTS)

Les expériences que nous allons rapporter datent de différentes époques; toutefois, la majorité est postérieure à la rédaction de notre précédent travail. Depuis ce moment, l'activité du virus C a légèrement fléchi, par suite de réensemencements trop fréquents sur gélose à la pomme de terre; aussi, nous a-t-il fallu forcer les doses inoculées. lorsque nous nous proposons d'éprouver des animaux supposés immuns.

IMMUNITÉ, VIS-A-VIS DU VIRUS C, CONFÉRÉE PAR INOCULATION UNIQUE DES VIRUS M OU C

Nous en avons déjà cité quelques exemples, à propos, notamment, de la morve expérimentale des jeunes cobayes. Voici — avec la *fin des observations U, V et X* — le résumé de plusieurs *cas nouveaux*.

Il s'agit, comme on va le voir, tantôt de jeunes mâles, guéris de l'inoculation intrapéritonéale, tantôt de femelles ayant supporté, sans aucun inconvénient, le même mode d'infection; ailleurs, de sujets chez lesquels le virus, introduit sous la peau, n'a déterminé qu'une réaction négligeable ou, tout au plus, très bénigne; dans un dernier cas, enfin, du seul cobaye que nous ayons vu résister à l'injection intrapleurale de 1 centigramme (virus M).

On remarquera que les animaux V, X, AD, AG, AH, ont été éprouvés avec succès (AG à deux reprises), alors qu'ils s'étaient montrés hypersensibles aux germes morts. On notera également que, sous l'influence d'une première administration de ces germes morts, pratiquée chez le sujet AE, le virus, latent, s'est « réveillé » — sans grand dommage, du reste. Et

nous ferons observer, en terminant, qu'après guérison de l'inoculation d'épreuve, les cobayes AD et AJ ont réagi constamment aux injections sous-cutanées de Mze, jusqu'au moment où l'on a cru inutile de répéter plus longtemps ces injections.

IMMUNISATION, PAR LE VIRUS M, CONTRE LE VIRUS C.

(U. Suite.) Après 39 jours, 840 grammes (+ 50); on inocule 10⁻¹ (virus C) sous la peau : abcès local, qui guérit; adénopathie axillaire bilatérale qui disparaît, après avoir suppuré à droite (un témoin meurt en 37 jours).

(A. B.) Un cob. mâle (230 gr.) reçoit, dans le péritoine, 10⁻¹ (virus M) : à droite, forme ectopique, type régressif — à gauche, f. ectopique, type inguinal, suivie de suppuration et de guérison — très peu d'émaciation (maximum = — 30 gr.). Après 87 jours, le poids ayant atteint 540 grammes (+ 310), on injecte 1 centigramme Mze sous la peau : réaction normale. Après 22 jours, 560 (+ 20); on inocule 10⁻² sous la peau (virus C) : abcès, qui guérit facilement; périostite du tibia droit, qui se résorbe vite; émaciation (-100), puis retour à la normale (un témoin meurt en 82 jours : abcès local, qui guérit, adénopathie inguinale correspondante, « orchite métastatique » droite, ulcérations scrotales). Après 67 jours, on injecte 1 centigramme Mze sous la peau : réaction normale.

(A. C.) Un cob. mâle (230 gr.) reçoit, dans le péritoine, 10⁻¹ (virus M) : à droite, forme éphémère — à gauche, forme ectopique, type inguinal, suivie de suppuration et de guérison — périostite du pied droit, qui se résorbe vite — eschares et pustules scrotales transitoires — pas d'émaciation. Après 200 jours, le poids étant monté à 590 grammes (+ 360), on injecte 1 centigramme Mze sous la peau : réaction moyenne, pas d'émaciation. Après 34 jours, on recommence : mêmes résultats. Après 39 jours, 640 (+ 50); troisième injection de 1 centigramme Mze : réaction normale, mais émaciation (-100). Après 21 jours, 630 (-10), on inocule 10⁻¹ (virus C) sous la peau : nodule local, qui se résorbe (un témoin meurt en 22 jours : abcès local, périostites multiples, double « orchite métastatique »).

(A. D.) Un cob. femelle (670 gr.) reçoit, dans la plèvre droite, 1 centigramme (virus M) : nodule thoracique allongé, parallèle aux côtes, qui se résorbe lentement. Puis, quelques pustules sur les grandes lèvres. Emaciation moyenne (-80). Après 61 jours, le poids étant de 650 (-20), on injecte, sous la peau, 1 centigramme Mze : réaction violente, pas d'émaciation. Après 34 jours, 800 (+ 150); on recommence : réaction prolongée. Après 66 jours, 880 (+ 80); on inocule 10⁻² (virus C) sous la peau (un témoin meurt en 71 jours 1/2) : abcès local, qui guérit; émaciation (-110). Après 77 jours 880 (± 0); on injecte 1 centigramme Mze sous la peau : réaction violente, émaciation (-120). Après 33 jours, 920 (+ 40); on recommence : réact. viol., émaciation (-160). Après 38 jours, 830 (-90); 3^e injection de Mze : réact. viol., émaciation (-70). Après 81 jours, 730 (-100); nouvelle injection : réact. viol., pas d'émaciation. Après 33 jours, 870 (+ 140); 5^e injection de Mze : réact. viol., pas d'émaciation. On juge inutile de continuer et l'observation est arrêtée définitivement.

IMMUNISATION, PAR LE VIRUS C, CONTRE LE VIRUS C.

(V. Suite.) Après 60 jours, 440 grammes (+ 150); on injecte 1 centigramme M_æ sous la peau : réaction moyenne. Après 28 jours, 460 (+ 20); on inocule, sous la peau, 10^{-1} (virus C) : petit nodule, vite résorbé. Après 21 jours, 540 (+ 80); on injecte, sous la peau, 1 centigramme M_æ : réaction normale.

(X. Suite.) Après 43 jours, 410 (+ 110); on injecte, sous la peau, 1 centigramme M_æ : réaction violente. Après 38 jours, 480 (+ 70); on inocule, sous la peau, 10^{-1} (virus C) : petit nodule qui guérit, après avoir suppuré partiellement; pas d'émaciation (un témoin meurt en 52 jours).

(A. E.) Un cob. femelle (210 gr.) reçoit, sous la peau, 10^{-5} (virus C) : petit nodule suppuré, qui guérit rapidement — périostites des deux tibias et de la main droite, vite résorbées — pas d'émaciation. Après 97 jours, le poids étant monté à 370 grammes (+ 160), on injecte 1 centigramme M_æ sous la peau : réaction violente, suivie d'une énorme ulcération qui guérit; périostite du tibia droit, rapidement terminée sans suppuration; pas d'émaciation. Après 53 jours, 530 (+ 160); on recommence : réaction normale. Après 49 jours, 520 (—10); on inocule 10^{-2} (virus C) sous la peau : *aucun effet* local, émaciation modérée (maximum — 50). Après 32 jours, 620 (+ 100); on injecte, sous la peau, 1 centigramme (virus C) : *nodule local, qui s'indure*, puis se ramollit et, finalement, *se résorbe* (un témoin meurt en 48 jours).

(A. F.) Un cob. femelle (230 gr.) reçoit, sous la peau, 10^{-5} (virus C) : petit nodule, qui se résorbe rapidement. Après 87 jours, le poids ayant atteint 420 grammes (+ 180), on injecte 1 centigramme M_æ sous la peau : réaction violente. Après 34 jours, 470 (+ 30); on recommence : réaction normale. Après 46 jours, 590 (+ 120); on inocule, sous la peau, 10^{-1} (virus C) : nodule local, qui se résorbe; adénopathie inguinale correspondante, qui disparaît peu à peu (un témoin meurt en 46 jours 1/2). Après 69 jours, 670 (+ 80); on injecte, sous la peau, 1 centigramme M_æ : réaction moyenne. Après 29 jours, 670 (\pm 0); on recommence : réaction normale.

(A. G.) Un cob. femelle (165 gr.) reçoit, sous la peau, 10^{-3} (virus C); nodule local, qui se résorbe. Après 64 jours, le poids étant monté à 430 grammes (+ 265), on injecte, sous la peau, 1 centigramme M_æ : réaction violente, pas d'émaciation. Après 25 jours, on inocule, sous la peau, 10^{-2} (virus C) : nodule local, vite résorbé; peu d'émaciation (—40). Après 37 jours, 540 (+ 90); on injecte 1 centigramme M_æ sous la peau : réaction violente. Après 28 jours, 510 (—30); on inocule, sous la peau, 10^{-1} (virus C) : petit nodule, vite résorbé (un témoin meurt en 39 jours 1/2). Après 21 jours, 650 (+ 140); on injecte, sous la peau, 1 centigramme M_æ : réaction normale.

(A. H.). Un cob. femelle (540 gr.) reçoit, sous la peau, 10^{-3} (virus C) : petit nodule, qui se résorbe rapidement — mise bas (2 petits en bon état, qui grandissent ensuite normalement). Après 69 jours, le poids étant monté à 630 grammes (+ 90), on injecte 1 centigramme M_æ sous la peau : réaction normale. Après 29 jours, 700 (+ 70); on inocule 10^{-1} (virus C) sous la peau : nodule qui se résorbe (un témoin meurt en 46 jours 1/2). Après

38 jours, 730 (+ 30); on injecte 1 centigramme Mze sous la peau : réaction moyenne. Après 17 jours, 740 (+ 10); on inocule 1 centigramme (virus C) sous la peau : petit nodule, qui suppure et guérit; pas d'émaciation (un témoin meurt en 13 jours). Après 46 jours, on injecte 1 centigramme Mze sous la peau : réaction normale.

(A. I.). Un cob. mâle (180 gr.) reçoit, dans le péritoine, 10^{-3} (virus C) : à droite, forme ectopique, suivie de f. scrotale secondaire, avec ouverture et guérison; à gauche, f. ectopique, type régressif — périostite du pied droit, qui se résorbe rapidement. Après 41 jours, 410 grammes (+ 230); on injecte, sous la peau, 1 centigramme Mze : réaction modérée et augmentation de poids. Après 41 jours, 520 (+ 110); on recommence : réaction normale. Après 11 jours, 560 (+ 150); on inocule 10^{-1} (virus C) sous la peau : abcès, qui guérit sans difficulté. Après 34 jours, 570 (+ 10); on injecte, sous la peau, 1 centigramme Mze : réaction normale. Après 26 jours, 580 (+ 10); on inocule, dans le péritoine, 10^{-2} (virus C) : *aucun effet* (un témoin meurt en 17 jours).

(A. J.). Un cobaye mâle (160 gr.) reçoit, sous la peau, 10^{-3} (virus C) : deux petits nodules (du volume d'un pois), qui suppurent et guérissent rapidement — adénopathie inguinale correspondante, transitoire. Après 44 jours, le poids ayant atteint 280 grammes (+ 120), on injecte, sous la peau, 1 centigramme Mze : réaction violente, sans émaciation. Après 31 jours, 350 (+ 70); on recommence : réaction normale. Après 28 jours, 450 (+ 100); on inocule 10^{-3} (virus C) dans le péritoine (un témoin meurt en 40 jours) : forme ectopique bilatérale; le testicule droit reprend sa mobilité, le testicule gauche demeure fixé dans l'abdomen; pas d'émaciation. Après 65 jours, 590 (+ 140); on injecte, sous la peau, 1 centigramme Mze : réaction violente et émaciation marquée. Après 126 jours, retour au poids antérieur (590); on recommence : réaction violente et émaciation faible. Après 33 jours, 670 (+ 80); 3^e injection de Mze : réaction violente et émaciation faible. On juge inutile de continuer et l'observation est arrêtée définitivement.

INOCULATIONS INTRACARDIAQUES DE VIRUS MORVEUX

ÉTUDE DE L'ÉCHANTILLON M

Toutes nos expériences ont été faites sur des *cobayes adultes mâles*. Avec la dose 10^{-2} , on n'observe qu'une émaciation légère et transitoire. Avec 10^{-1} , la moitié environ des sujets maigrissent plus ou moins, puis reviennent à la santé. Cette guérison peut n'être qu'apparente et l'injection sous-cutanée de Mze « fait sortir » alors le virus, cantonné principalement (sinon exclusivement) dans le squelette; les cobayes succombent, en effet, après avoir montré des *ostéopériostites* multiples. Il va sans dire que si l'on attendait très longtemps, pour pratiquer l'épreuve par les germes morts, la guérison se révélerait sans doute

aussi complète que chez le reste des animaux. où elle se double presque toujours d'une *immunité* facile à mettre en évidence (lorsqu'on inocule, par exemple, 10^{-1} du virus C sous la peau, les cobayes traités n'offrent qu'un abcès bénin, tandis que les témoins périssent). — L'autre moitié des sujets contractent la *morve généralisée type*; la plupart sont enlevés en 11-147 jours (chiffres extrêmes observés), quelques-uns résistent.

ÉTUDE DE L'ÉCHANTILLON C

Cobayes mâles adultes.

Avec 10^{-1} et 10^{-3} , on n'obtient qu'un amaigrissement modéré et passager.

Avec 10^{-2} , la *majorité des animaux* ne subit qu'une perte de poids momentanée et acquiert, dans la règle, l'état *réfractaire* (l'injection sous-cutanée de 10^{-1} du virus C, par exemple, ne leur donne qu'une suppuration sans importance, alors qu'elle tue les cobayes neufs). — La *minorité des animaux* prend la *morve généralisée, sans lésions génitales* et guérit le plus souvent; quand la mort survient, elle n'a lieu qu'à la longue et par cachexie, tout signe morbide ayant disparu depuis des semaines. Les sujets guéris sont habituellement *immuns*. Quand on leur inocule, par exemple, 10^{-1} (virus C) dans le péritoine, voici ce que l'on observe: les testicules « frottent » et se fixent au sein du scrotum, sans réaction inflammatoire du côté des téguments; puis, la guérison survient peu à peu et les glandes mâles, mollasses et atrophiées, reprennent leur entière mobilité. Les témoins meurent, naturellement, de la façon habituelle.

Avec 10^{-1} , tous les animaux succombent à la *morve généralisée type*, en 4 1/2 à 45 jours (c. e.), d'ordinaire rapidement.

Cobayes femelles adultes.

Avec 10^{-1} , la morve généralisée est également constante, mais la moitié, environ, des sujets guérit: l'autre moitié périt en 11 1/2 à 95 jours (c. e.). La moindre gravité des inoculations intracardiaques chez la femelle ne peut être rapportée qu'à l'absence de lésions génitales. c'est-à-dire à la présence, dans l'organisme atteint, d'une moindre « masse infectée ».

Jeunes cobayes mâles.

Nous avons expérimenté, sur des animaux de 150 et

250 grammes, avec la dose 10^{-2} . Les *premiers* ont tous succombé à la morve généralisée ; mais, dans la moitié des cas environ, celle-ci s'était compliquée de pseudo-tuberculose. Parmi les *seconds*, la moitié environ a péri de morve généralisée pure et le quart environ de pseudotuberculose associée ; les derniers ont résisté à la généralisation morveuse. On ne saurait donc, d'après ces résultats, affirmer que les jeunes sujets soient plus sensibles que les adultes aux inoculations intracardiaques. Chez tous ces jeunes sujets, nous avons noté l'abondance excessive des *ostéopériostites*, avec localisation *constante* au niveau du museau ; il se forme là un abcès, souvent volumineux, qui rend l'apparence de l'animal tout à fait ridicule. Ajoutons que si les lésions génitales ont constamment fait défaut, elles manquaient aussi, chez les adultes, après inoculation de 10^{-2} .

SIGNES ET LÉSIONS DE LA MORVE GÉNÉRALISÉE

Elle s'annonce, dès le 3^e jour, par une *éruption pustuleuse*, qui prédomine aux oreilles, au scrotum et à la vulve, pour y devenir bientôt plus ou moins confluyente. Puis, chez le mâle qui a reçu 10^{-1} des virus M ou C, on note, si la mort n'est pas trop rapide (comme cela peut arriver avec le virus C), la présence d'une *induration* uni ou bilatérale de l'*épididyme*. Cette induration peut s'étendre au testicule et la glande mâle contracte, ou non, des adhérences ultérieures avec les bourses. Dans les *cas aigus*, les animaux maigrissent très vite et ne tardent point à succomber. Dans les *cas lents*, les *poussées pustuleuses* continuent à se produire et l'on assiste alors à l'apparition d'*ostéopériostites* multiples, susceptibles d'atteindre tous les points du squelette. Ces ostéopériostites suppurent parfois, mais la résolution demeure la règle. Les cobayes, atteints de morve généralisée, guérissent complètement, avons-nous dit, dans un certain nombre de cas, alors même qu'il s'agit de mâles porteurs de lésions génitales ; ailleurs, ils meurent, comme on l'a vu, soit au cours des accidents que nous venons de mentionner, soit après leur disparition (cachexie).

A l'*autopsie* des *cas aigus*, on observe de la congestion généralisée des viscères et de la dégénérescence graisseuse du foie. De plus, chez les mâles, l'*épididyme* et parfois le testicule

offrent déjà de petits abcès miliaires, superficiels et interstitiels : le *musculus testis* participe, ou non, à ces altérations. Si la mort n'est pas très précoce, le foie et surtout la rate sont semés de fines granulations. *Dans tous les cas aigus, le sang donne des cultures positives.*

Les *types lents* se traduisent *post mortem*, chez le mâle, par une transformation caséuse ou caséopurulente plus ou moins complète de l'épididyme et, assez souvent aussi, du testicule, avec ou sans lésions du *musculus testis*. Ils peuvent également se traduire, dans les deux sexes, par des tubercules spléniques et hépatiques, lorsque les sujets ne périssent pas trop tardivement. Nous savons que les mâles, qui ont reçu 10^{-2} du virus C, n'offrent jamais de localisations génitales. Nous savons aussi que, chez certains mâles, inoculés avec 10^{-1} du virus M, les localisations génitales guérissent cliniquement : l'autopsie de ces animaux, sacrifiés après leur complet rétablissement, montre que la guérison était réellement complète.

Il est donc établi, par nos expériences, que *l'inoculation intracardiaque des virus M et C, à dose suffisante, détermine l'apparition d'une épididymite et d'une orchite vraies*, lésions que nous n'avons jamais obtenues quand nous injectons le bacille morveux d'une autre façon. En effet, les « orchites métastatiques », observées à la suite de l'infection sous-cutanée (peau de l'abdomen), intramusculaire (muscles de la fesse) ou intrapleurale, ont constamment revêtu les types décrits à propos de l'infection intraabdominale.

Il faut donc admettre que ces « orchites métastatiques » devaient leur origine à une migration des germes par voie lymphatique. Nous sommes loin de vouloir contester la possibilité d'une migration par voie sanguine, mais nous répétons n'avoir jamais rencontré, ni cliniquement ni à l'autopsie, les altérations qu'un tel mode de transport devrait forcément engendrer.

Il ressort également de nos recherches que *l'inoculation intracardiaque unique de 10^{-2} du virus C constitue un moyen de vaccination fort efficace, le meilleur peut-être de tous ceux que nous connaissons* : malheureusement, ce procédé d'immunisation n'est pas toujours inoffensif (L'inoculation de 10^{-1} du virus M comporte encore plus de danger).

Remarque. — On se demandera, sans doute, pourquoi les animaux mâles, considérés comme réfractaires, ont été éprouvés tantôt par injection sous-cutanée, tantôt par injection intrapéritonéale (de 10^{-1} — virus C). Ce dernier mode d'infection, très-sévère, a été préféré par nous dans le groupe de cas où nous estimions que la résistance avait dû atteindre son maximum; l'événement nous a donné raison.

REMARQUES SUR LA TECHNIQUE DES INOCULATIONS INTRACARDIAQUES.

En suivant la méthode indiquée par Ch. Nicolle, pas un seul des animaux inoculés n'a succombé durant l'injection.

Par contre, il est arrivé, au début de nos recherches, qu'un peu de virus pénétrait dans le parenchyme du poumon gauche, lorsque l'on introduisait l'aiguille — ou dans la cavité du péricarde, lorsqu'on la retirait. Cet accident ne s'est d'ailleurs produit que 5 fois en tout. Nous avons été averti, cliniquement, de l'erreur commise par le développement rapide d'une dyspnée intense et les cobayes ont succombé en 2 jours $1/2$ à 8 jours (c.e.). A l'autopsie, on pouvait observer, à côté des lésions caractéristiques décrites plus haut, de la splénisation du poumon gauche, avec ou sans pleurésie et péricardite concomitantes (3 fois); de la splénisation des deux poumons, avec pleurésie (1 fois); ou de la péricardite (1 fois). Il est curieux de voir que l'injection intracardiaque, mal réussie, d'une quantité donnée de germes, l'emporte d'ordinaire, comme sévérité, à la fois sur l'injection intracardiaque et sur l'injection intrathoracique de la même dose.

EXPÉRIENCES D'INFECTION PAR LES MUQUEUSES

Si l'on introduit, dans l'estomac de cobayes adultes, à jeun depuis 24 heures, des doses de virus (C) allant de 1 à 2 centigrammes, les animaux demeurent en bonne santé. Mais, éprouvés après une quinzaine, par injection sous-cutanée de Mæ, ils présentent une réaction anormale (habituellement du type violent) et, dans la moitié des cas environ, ceux des germes qui avaient pénétré au sein de l'organisme et qui se trouvaient encore vivants prolifèrent et manifestent leur développement par des lésions variées, toujours bénignes (périostites et adénites principalement).

Si l'on introduit, dans la bouche de cobayes jeunes (150 à

250 grammes) ou *adultes*, non à jeun, 1-2 centigrammes de virus C, même absence de tout phénomène morbide. Lors de l'épreuve (15 jours après — M_{az}), les adultes offrent une réaction normale ou prolongée et rien de plus — les jeunes une réaction violente, qui peut être suivie de périostites sans gravité. Ces jeunes animaux, éprouvés ensuite à deux reprises avec les germes morts, se montrent d'ordinaire encore hypersensibles la première fois, moins souvent la seconde. Les voies digestives sont donc plus perméables aux bacilles spécifiques chez les jeunes sujets que chez les adultes.

Si l'on introduit, dans chacune des *urines* de cobayes *adultes*, 1/2 centigramme de virus (M ou C), les animaux restent bien portants. Eprouvés au bout d'une quinzaine (M_{az}), ils offrent une réaction anormale (constante, pour toutes nos observations), mais pas de lésions morveuses.

L'infection par les muqueuses équivaut, en somme, à l'introduction, dans l'organisme, d'un nombre restreint de germes; d'où sa bénignité; d'où, également, son inaptitude à créer l'état réfractaire (aucun des animaux, cités plus haut, n'avait acquis l'immunité vis-à-vis des microbes vivants). — Il n'est question, ici, que de l'*infection non répétée* par les muqueuses, la seule que nous ayons étudiée.

SÉRUMS NORMAUX ET INFECTION MORVEUSE

(VIRUS C — COB. ADULTES).

Tantôt, les sérums ont été mélangés au virus et le tout introduit, immédiatement, soit sous la peau, soit dans le péritoine; tantôt, l'injection (intra-abdominale) des sérums a précédé de 24 heures celle (sous-cutanée ou intra-péritonéale) des microbes. Disons, de suite, que les sérums chauffés (1/2 heure à 55°) se sont comportés, d'ordinaire, comme les sérums frais; ils leur ont même paru supérieurs lors de l'inoculation sous-cutanée des mélanges S + V.

SÉRUM ET VIRUS MÉLANGÉS.

Injection sous-cutanée.

Nous avons étudié les sérums de cheval, de boeuf, de cobaye, de lapin et de chien. Nos expériences peuvent se résumer de la façon suivante.

Injection 1-2 c. c. de S + 10⁻² V. — Les animaux ont toujours résisté avec les S. de cobaye et de lapin; pas toujours avec les S. de bœuf et de cheval.

Injection de 2 c. c. de S + 10⁻¹ V. — Les animaux ont toujours résisté avec le S. de lapin; pas toujours avec les S. de bœuf et de cobaye; ils ont régulièrement succombé avec ceux de cheval et de chien.

Injection de 3 c.c. de S + 10⁻¹ V. — Les animaux ont toujours résisté avec les S. de chien et de cobaye; pas toujours avec le S. de lapin; ils ont constamment péri avec ceux de cheval et de bœuf.

On ne saurait formuler, d'une façon satisfaisante, les résultats qui précèdent. La résistance individuelle des animaux d'une part et, d'autre part, l'intervention de maladies associées ont rendu, en effet, très difficile l'appréciation exacte de la valeur des sérums employés. Nous aurions pu, il est vrai, multiplier encore davantage nos recherches, pourtant assez nombreuses; il nous a paru que le sujet n'en valait point la peine. Contentons-nous donc de conclure que, *d'une façon générale*, le sérum de lapin se montre le plus actif de tous; que le sérum de cobaye vient après, suivi (selon les circonstances) de celui de bœuf ou de celui de chien; et que le sérum de cheval est, sans contredit, le moins bon de tous. Ajoutons que l'*ovalbumine* peut manifester une efficacité indéniable, mais nous avons fait trop peu de recherches avec elle pour pouvoir la comparer étroitement aux sérums. Mentionnons enfin que, parmi les animaux qui ont cliniquement résisté à l'injection des mélanges S + V, *les uns* n'étaient guéris qu'en apparence, au moment de l'épreuve par les microbes morts, car les germes latents n'ont pas tardé à révéler leur présence sous l'influence de ceux-ci. *Un certain nombre des autres* sujets, réellement guéris, étaient devenus immuns, comme l'a prouvé la façon dont ils ont supporté l'inoculation sous-cutanée de 1 centigramme du virus C ou l'inoculation intra-abdominale de 10⁻¹ du même virus.

Injection intrapéritonéale.

Les cobayes, auxquels nous avons administré, par la voie intra-abdominale, 3 c.c. de S (cheval, bœuf, lapin) + 10⁻¹ de V, ont toujours péri avant les témoins.

1. Nous appelons, « en bloc », résistance : l'absence totale d'infection; l'apparition d'un nodule transitoire, terminé par résorption; et celle d'un petit abcès, aisément curable.

SÉRUM, PUIS VIRUS.

Nous avons injecté 5 c.c. de S. dans le péritoine et, le lendemain, 10^{-1} de V soit sous la peau. soit dans l'abdomen. 4

Infection sous-cutanée.

Elle n'a jamais paru modifiée quant à son intensité (les expériences ont été faites presque uniquement avec le S. de lapin).

Infection intrapéritonéale.

Qu'il s'agit de cobayes mâles ou femelles, et quel que fût le S. employé (cheval, lapin, cobaye), les animaux ainsi traités ont régulièrement succombé avant les témoins.

CONCLUSIONS.

Les expériences qui viennent d'être rapportées et celles que nous avons fait connaître dans notre premier travail nous autorisent à formuler les propositions que voici. L'inoculation sous-cutanée du mélange d'un S. normal et d'une forte dose de virus très actif (10^{-1} à 10^{-2} de virus C) est souvent suivie de résistance; l'inoculation intrapéritonéale du même mélange se montre au contraire plus sévère, dans tous les cas, que celle du virus seul. — L'injection intrapéritonéale d'un S. normal, suivie de l'injection intrapéritonéale d'une faible dose de virus très actif (10^{-6} de virus C, par exemple), aboutit à la résistance dans un certain nombre de cas (cette résistance peut se voir également avec 10^{-2} de virus M. peu actif); suivie de l'inoculation intrapéritonéale d'une forte dose de virus très actif (10^{-1} de virus C), elle conduit, au contraire, à une infection plus grave que celle qu'engendre le virus seul. — Enfin, l'injection intrapéritonéale d'un S. normal, suivie de l'inoculation sous-cutanée d'une forte dose de virus très actif (10^{-1} de virus C), ne modifie en rien le cours des accidents.

Nous savons déjà que, chez le cobaye mâle, l'injection intrapéritonéale de S. de cheval favorise la production des lésions génitales, dues aux microbes morveux morts. Le cas est absolument comparable à celui où l'on opère avec de fortes doses de microbes vivants et très actifs. Ces fortes doses demeurent, il est vrai, notablement inférieures aux quantités de germes morts employés dans les expériences dont nous parlons; mais il ne faut pas oublier que les germes vivants jouissent, d'une

part, de leur toxicité maxima et ne tardent pas, d'autre part, à se multiplier *loco loco*. L'analogie est donc absolue entre les deux groupes de faits.

EXPÉRIENCES DIVERSES. AVEC LES MICROBES MORTS

INJECTIONS INTRAPÉRITONÉALES, CHEZ LES JEUNES COB. MALES

[Expériences faites avec les *bacilles chloroformés*.] Nous avons établi, précédemment, qu'il est aisé de reproduire les localisations génitales de la morve en introduisant, dans la cavité abdominale du cobaye mâle adulte, 2 à 3 centigrammes de germes tués (poids sec). Le même résultat s'obtient encore chez les sujets de 250 à 300 grammes, mais il fait régulièrement défaut chez les animaux plus jeunes. Les lésions génitales, dues aux microbes morts, ne peuvent donc être réalisées qu'à partir du 2^e mois, époque où nous savons que les cobayes jeunes commencent à se comporter également, vis-à-vis des microbes vivants, comme les sujets adultes. La faible sensibilité de la « vaginale musculaire » dans le jeune âge, que nous avons jadis mise en évidence par des expériences avec le virus vivant, ressort donc, d'une façon encore plus schématique, de ce qui précède.

INJECTIONS SOUS-CUTANÉES RÉPÉTÉES (COB. ADULTES)

Il nous a paru intéressant de rapporter, brièvement, l'histoire de deux cobayes soumis, *depuis le début de juin 1905*, à des injections sous-cutanées, répétées, de Mze (1 centigr.) L'un de ces animaux a reçu, en tout, 11 injections (intervalles : 16-92 jours); la réaction s'est révélée normale à la suite des 5 premières, puis violente après chacune des 4 suivantes, enfin normale derechef lors des 10^e et 11^e; mais, comme la 11^e avait déterminé une émaciation forte et prolongée, l'observation a été arrêtée définitivement, le 5 novembre 1906, au moment où le cobaye avait recouvré la santé. — L'autre sujet, encore en observation et très bien portant, a reçu 13 injections (intervalles : 10-102 jours); réaction normale après les 6 premières; puis, modérée lors des 7^e et 8^e; enfin, constamment moyenne par la suite.

Le premier animal s'est donc montré hypersensible, à la 6^e injection, et l'est demeuré, *localement*, jusqu'à la 10^e;

l'influence, exercée par la 44^e sur l'état général, prouve que le sujet avait conservé jusqu'à la fin un haut degré d'intolérance vis-à-vis de Mze. — Le second cobaye s'est montré hypersensible, à la 7^e injection, et l'est encore aujourd'hui; son état général n'a jamais cessé d'être excellent.

Les deux observations qui précèdent tendraient à faire croire qu'il existe un rapport inverse entre la réaction locale et la réaction générale. Nous avons dit ailleurs, nous basant sur de nombreuses expériences, qu'un tel rapport n'offre rien de constant.

INJECTIONS INTRAVEINEUSES, INTRACARDIAQUES, INTRACÉRÉBRALES

Injections intraveineuses (cob. adultes).

[*Microbes chauffés* (humides).] 3 centigrammes déterminent une mort rapide, avec *hémopéritoine* fréquent; 2 centigrammes tuent, en quelques jours, sans lésions spéciales; 1 centigramme est habituellement bien supporté (émaciation transitoire).

Injections intracardiaques (cob. adultes).

[*Microbes chauffés* (humides).] 3 centigrammes tuent très vite, avec *hémopéricarde*; 2 centigrammes amènent généralement la mort en moins de 2 heures, avec *hémopéritoine* fréquent et quelquefois *hemothorax*; 1 centigramme peut faire périr les animaux en 4 à plusieurs jours.

[*Microbes traités par l'alcool-éther* (secs).] Mêmes résultats, à dose, naturellement, 5 fois moindre.

Les injections intracardiaques sont donc incontestablement plus sévères que les injections intraveineuses, sans parler de l'hémopéricarde, qui accélère la terminaison mortelle dans le cas d'introduction de doses massives.

Injections intracérébrales (cob. adultes et jeunes).

[*Microbes traités par l'alcool-éther* (secs).] 1-2 milligrammes tuent les animaux adultes dans la nuit; 2 milligrammes tuent les jeunes sujets en quelques heures.

INGESTION

Cantacuzène et Riegler ont observé que si l'on porte directement, dans l'estomac du cobaye, des bacilles morveux tués

par l'alcool absolu, on provoque, selon la dose administrée, soit la mort rapide ou lente des sujets, soit leur hypersensibilité vis-à-vis d'une nouvelle ingestion trop précoce. Nous avons fait antérieurement, de notre côté, les expériences qui suivent, avec des germes exposés aux vapeurs de chloroforme, germes dont la toxicité (rapportée au poids des microbes humides) se montre absolument équivalente à celle des bacilles traités par l'alcool, lors des injections sous-cutanées, intramusculaires et intrapéritonéales. Or, ces germes peuvent être introduits, *sans aucun inconvénient* immédiat ou consécutif, dans l'estomac de cobayes adultes à jeun depuis 24 heures — et cela, non seulement une fois, mais encore 2 et 3 fois au moins (à 7 jours d'intervalle) — sous la masse de 50 centigrammes (poids humide).

On peut également administrer, sans aucun danger, 4 fois de suite au moins (à 2 jours d'intervalle 50 centigrammes des mêmes bacilles (humides) chez les cobayes adultes et 25 chez les jeunes sujets (150 à 250 gr.), en déposant les microbes morts sur la base de la langue. Les animaux, éprouvés quinze jours après, par injection sous-cutanée de M₂₂, se comportent d'une façon différente suivant leur âge. Tandis que les adultes offrent les réactions normale ou prolongée, les jeunes présentent les réactions violente ou moyenne.

Que le virus morveux administré soit vivant ou non, la muqueuse digestive se montre donc plus perméable à son endroit dans le jeune âge que dans l'âge adulte.

Paris, janvier 1907.

RECHERCHES SUR l'Infection provoquée par le spirille de la Tick-fever.

(Avec les pl. VIII et IX.)

PAR MM. LEVADITI ET MANOUÉLIAN

(Travail du laboratoire de M. le professeur Metchnikoff.)

Dans notre mémoire concernant l'histologie pathologique de la spirillose des poules, paru dans ces *Annales*¹, nous annoncions des recherches déjà en cours se rapportant à l'étude de la septicémie que provoque chez le singe, la souris et le rat, le spirille de la *Tick-fever*. Nous apportons aujourd'hui les résultats fournis par ces recherches, en particulier ceux qui ont trait à l'histologie pathologique de cette septicémie, à la morphologie de ce spirille et au mécanisme de la crise qui marque la fin de l'infection².

*
* *

Le *virus* dont nous nous sommes servis a été mis obligeamment à notre disposition par MM. les professeurs Koch et Wassermann de Berlin ; il avait été recueilli dans l'Est africain par M. Koch⁴ chez des malades atteints de la fièvre récurrente, rencontrée dans ces régions par Brückner et par Werner⁵. La conservation de ce virus a été réalisée soit à l'aide des tiques qui transmettent la maladie (*Ornithodoros moubata*), soit par des passages successifs pratiqués chez la souris. La première des semences que nous avons eues à notre disposition, injectée sous la peau ou dans le péritoine des souris, des rats et des singes (*Macacus cynomolgus*), ne provoquait jamais la mort de ces animaux. L'inoculation était suivie d'une abondante pullulation des parasites dans la circulation générale, et la maladie qui, chez le singe, s'accompagnait d'une élévation de température, se terminait par une disparition critique des

1. LEVADITI et MANOUÉLIAN, ces *Annales*, juillet 1906, p. 593.

2. Nos principales constatations ont été déjà publiées autre part. (*C. R. de la Société de Biologie*, 8 décembre 1906.)

3. Nous prions ces messieurs de recevoir ici le témoignage de notre vive gratitude.

4. R. KOCH, *Deutsche med. Woch.*, 23 novembre 1905.

5. WERNER, *Arch. für Schiffs- u. Tropen-Hygiene*, vol. X, 1906.

spirilles de cette circulation¹. La crise survenait habituellement le 3^e ou le 4^e jour après l'inoculation du virus.

Un second virus, reçu plus tard, s'est montré sensiblement plus actif que le précédent. La souris envoyée de Berlin présentant une infection mixte provoquée par le spirille de la *Tick-fever* et par un trypanosome (espèce non déterminée), nous avons commencé par nous débarrasser de ce trypanosome, ce qui nous a été possible grâce aux précieux conseils de M. Mesnil. En injectant aux souris 1/2 c. c. par 20 grammes d'une solution à 1 0/0 d'atoxyl, nous avons fait disparaître les trypanosomes du sang, et comme malgré ce traitement, les spirilles ont persisté et ont continué à se multiplier dans la circulation générale, nous avons ainsi purifié notre virus.

En réalisant à l'aide de ce virus des passages fréquents chez la souris, nous avons constaté, au bout d'une dizaine d'inoculations, une exagération manifeste de son activité. Cette exagération s'est traduite par une prolifération plus active des parasites, par une prolongation de la durée de la maladie et, le plus souvent, par la mort des souris infectées. Si l'on a soin de se servir de petits animaux et d'inoculer dans la cavité péritonéale quelques gouttes d'un sang très riche en spirilles, on constate que les souris, dont le sang montre des parasites dès le lendemain de l'injection, succombent le 4^e, le 5^e et même le 6^e jour : la crise est totalement absente dans ces conditions. Des expériences souvent répétées nous ont montré que l'issue mortelle de la septicémie à spirilles dépend en grande partie de la quantité du virus inoculé. Ainsi, la maladie nous a semblé être moins grave lorsque les animaux étaient infectés avec du sang pris chez des souris injectées depuis peu et dont la richesse en spirilles n'était pas trop considérable. Ajoutons que chez le rat, la septicémie spirillienne évolue plus rapidement que chez la souris, et qu'elle ne provoque jamais la mort de l'animal.

*
* *

La *méthode* dont nous nous sommes servis au cours de ces recherches est la suivante :

Les animaux, souris, rats ou singes, étaient infectés par voie sous-

1. Nos animaux étant sacrifiés sitôt la crise finie, nous n'avons pu étendre notre étude aux rechutes signalées par M. Koch (*loc. cit.*).

cutanée ou intra-péritonéale et sacrifiés à divers moments de l'infection, ainsi qu'à des intervalles variables après la disparition critique des spirilles du sang. Les organes étaient fixés par le formol (10 0/0) ou par le sublimé à alcool acétique de Gilson. Nous avons utilisé, pour la mise en évidence des spirilles sur coupes, la méthode à l'argent-pyridine que nous avons recommandée pour l'étude du *Treponema pallidum* dans les tissus syphilitiques¹. Cette méthode est excellente si l'on désire préciser la distribution des parasites dans les divers organes; mais, lorsqu'on veut rechercher les détails des spirilles de la *Tick-fever* inclus dans les phagocytes, on s'aperçoit de l'insuffisance des résultats qu'elle permet d'obtenir. Aussi avons-nous modifié ce procédé en traitant nos pièces de la façon suivante :

1° Des petits fragments d'organes (environ 1 millimètre d'épaisseur), préalablement fixés au formol et durcis pendant une heure à l'alcool à 95°, sont lavés à l'eau distillée, jusqu'à ce qu'ils tombent au fond du récipient;

2° On plonge ces fragments dans une solution de *tanin* à 1 0/0 additionnée d'une quantité suffisante de pyridine pour que le mélange, d'abord trouble, devienne complètement transparent. Les pièces sont maintenues dans ce bain de tanin-pyridine pendant un quart d'heure à 50 degrés;

3° Lavages répétés à l'eau distillée;

4° Les fragments sont ensuite introduits dans un flacon contenant une solution de nitrate d'argent à 1 0/0, additionnée de 10 0/0 de pyridine et maintenus à 50° pendant une heure;

5° On lave à l'eau distillée et on réduit à l'aide d'une solution d'acide pyrogallique à 4 0/0 à laquelle on ajoute une quantité suffisante de pyridine pour que le mélange devienne complètement clair. La réduction s'effectue au bout de quelques minutes déjà;

6° Lavage à l'eau distillée, alcool, xylol, paraffine et coupes.

Coloration double au rouge neutre combiné au bleu de méthyle.

Grâce à ce procédé dont la nouveauté consiste dans le mordantage préalable des pièces au tanin, nous avons pu mettre en évidence avec une extrême aisance les spirilles inclus dans les phagocytes, et nous avons précisé certains détails morphologiques sur lesquels nous insisterons au cours de ce mémoire.

*
* *

L'examen microscopique des organes prélevés sur des animaux sacrifiés en pleine évolution de la spirillose, montre que le spirille de la *Tick-fever* a une préférence marquée pour le système vasculaire, à l'intérieur duquel il se développe activement. Ce spirille se comporte donc, à ce point de vue, comme le *Spirillum obermeyer* et le *Spirillum gallinarum* découvert au

1. LEVADITI et MANOUELIAN, *C.R. de la Société de Biologie*, vol. XL, page 134.

Brésil par Marchoux et Salimbeni¹. Malgré le soin particulier que nous avons mis à l'étude de nos coupes, il nous a été impossible de découvrir des rapports intimes entre le spirille de la *Tick-fever* et des éléments cellulaires autres que les phagocytes. A aucun moment de l'évolution de la maladie, ce parasite ne s'attaque aux cellules glandulaires, ne pénètre dans le protoplasma de ces cellules. Quoique l'abondance des microorganismes spirillés contenus dans le foie devient par certains moments considérable, ces microorganismes restent cantonnés dans le réseau des capillaires sanguins et ne font qu'effleurer les épithéliums hépatiques.

Le fait que le spirille de la *Tick-fever* ne pénètre pas dans le protoplasma des éléments nobles chez les animaux d'expérience est intéressant, si on le rapproche des constatations publiées par Bertarelli² se rapportant à la topographie du *Spirillum obermeyer* dans les tissus des individus ayant succombé au cours de la fièvre récurrente. Ce savant, se servant de la méthode à l'argent, affirme avoir décelé dans le protoplasma de cellules spléniques et des épithéliums hépatiques, des spirilles facilement reconnaissables, mais dont la forme était plus ou moins modifiée. Rappelant les constatations analogues faites par l'un de nous³ dans le foie, les capsules surrénales, les glandes sudoripares et le poumon des nouveau-nés hérédosyphilitiques, où l'on remarque la présence du *Treponema pallidum* dans le protoplasma cellulaire, Bertarelli insiste sur le rapprochement qu'il y aurait à faire entre le spirille de la fièvre récurrente et ce tréponème. Néanmoins, tenant compte des restrictions que nous avons formulées à propos de l'existence intra-cellulaire du microbe de la syphilis, Bertarelli se demande si le phénomène dont il est question, n'est pas une manifestation préagonique, et si l'invasion des éléments anatomiques par les spirilles d'Obermeyer n'est pas due à la faible vitalité de cellules s'acheminant vers la mort.

Nos recherches entreprises avec un spirille très rapproché, sinon identique au parasite de la récurrente, ayant été faites

1. Voir notre mémoire déjà cité.

2. BERTARELLI, *Rivista d'Igiene*, vol. XVII. Cbt. fur Bakteriologie, vol. XLI, 1906, fasc. 4.

3. LEVADITI, ces *Annales*, vol. XX, 1906, p. 4.

sur des animaux sacrifiés en pleine infection, permettent de trancher définitivement cette question. Il est hors de doute pour nous, que *le spirille de la Tick-fever est un microorganisme qui pullule exclusivement dans le torrent circulatoire et qui n'envahit à aucun moment le protoplasma cellulaire. Il ne saurait donc être question d'un stade intra-cellulaire dans l'évolution de ce spirille chez les animaux infectés.*

Si l'existence de spirilles inclus dans les cellules chez les hommes morts de fièvre récurrente est sûrement un phénomène prémortel, il n'en est pas de même de la pénétration du *Treponema pallidum* dans le protoplasma des divers éléments glandulaires. En effet, il résulte des recherches entreprises par l'un de nous (Levaditi) en collaboration avec Sauvage¹, que cette pénétration peut être mise en évidence sur des préparations fixées à un moment où les tréponèmes sont encore vivants et très mobiles, et où les cellules paraissent avoir gardé toute leur vitalité. Ainsi, chez un enfant dont on a pu prélever des fragments d'organes très peu de temps après la mort, il a été possible de déceler un grand nombre de tréponèmes dans le protoplasma des cellules du foie et de rares parasites inclus dans les ovocytes. C'est surtout la disposition des tréponèmes dans les ovules provenant de ce nouveau-né hérédosyphilitique qui nous a convaincus du caractère vital de cette pénétration des parasites de Schaudinn et Hoffmann dans le corps cellulaire. Ainsi, si l'on examine de près les ovocytes renfermant des tréponèmes, on remarque que le plus souvent ces tréponèmes sont emprisonnés dans des vacuoles protoplasmiques, très probablement remplies de liquide. Ceci prouve que les microorganismes spirillés, après avoir envahi le protoplasma ovulaire, ont provoqué une réaction de la part de la cellule, réaction dont l'existence serait difficile à expliquer, si l'on admettait que la cellule était morte ou qu'elle s'acheminait vers la mort lors de la pénétration des tréponèmes.

D'ailleurs le *Treponema pallidum* n'est pas le seul représentant de la famille des spirilles qui soit capable de pénétrer dans le corps des cellules glandulaires. Le *Spirillum gallinarum*, qui d'après nos recherches, vit exclusivement en dehors des élé-

1. LEVADITI et SAUVAGE, *C. R. de l'Académie des Sciences*, séance du 13 octobre 1906.

ments cellulaires chez les poules adultes et chez les poussins, s'insinue dans le protoplasma des cellules hépatiques chez les embryons de poulet infectés par inoculation du virus dans l'œuf (Levaditi¹). Il résulte de là que l'envahissement du protoplasma des éléments cellulaires nobles par les microorganismes spirillés est un fait réel, mais qui ne se rencontre pas chez toutes les espèces de spirilles étudiées jusqu'à présent. Le phénomène doit dépendre d'une infinité de circonstances, parmi lesquelles les plus importantes nous semblent être les dimensions du parasite et sa mobilité d'une part, le degré de la résistance opposée par les cellules d'autre part².

L'énorme abondance de spirilles contenus dans le système vasculaire, ainsi que la facilité avec laquelle ces spirilles se laissent imprégner par l'argent, nous a permis de préciser sur coupes, le mécanisme de la division des parasites, de même que l'état où ils se trouvent dans le plasma circulant.

Pour ce qui concerne le premier point, malgré l'examen attentif de nos préparations, il nous a été impossible de découvrir des formes pouvant plaider en faveur d'une segmentation longitudinale des spirilles de la *Tick-fever*. La disposition en V rencontrée assez rarement d'ailleurs, ne saurait être considérée comme un indice de segmentation longitudinale; elle est due au fait que deux spirilles se sont réunis par l'une de leurs extrémités, par suite de l'agglutination de leurs cils terminaux, cils dont l'existence a été mise hors de doute par les recherches entreprises par Zettnow³ à la suite de celles de Borrel⁴. Par contre, plus d'une fois nous avons décélé dans les vaisseaux des spirilles disposés longitudinalement et réunis par un très mince filament prêt à se rompre. Cette particularité, déjà rencontrée chez le *Spirillum gallinarum*, plaide plutôt en faveur de la *division de nos spirilles par voie de segmentation transversale*. Ce qui nous le fait croire, c'est en outre de cette disposition spéciale, la nature bactérienne des spirilles de la *Tick-fever*, rendue très probable

1. LEVADITI, ces *Annales*, vol. XX, novembre 1906, p. 924.

2. Nous attirons l'attention sur le fait que c'est exclusivement chez le nouveau-né et les embryons que l'on a révélé la présence intra-cellulaire des parasites spirillés. Cela doit dépendre de ce que chez les êtres incomplètement développés, les cellules sont moins résistantes que chez les adultes.

3. ZETTNOW, *Deutsche medic. Woch.*, 8 mars 1906, p. 376.

4. BORREL, *C. R. de la Société de Biologie*, vol. LX, p. 438, 1906.

par la découverte de nombreux cils disposés le long de ces spirilles.

Pour ce qui a trait à la disposition des spirilles dans la lumière des vaisseaux, nos recherches nous ont conduits à admettre que si, dans les cas d'infection légère, ces parasites se meuvent librement dans le plasma, par contre, lorsqu'il s'agit d'animaux dont le sang est extrêmement riche en microorganismes spirillés, ceux-ci sont pour la plupart accolés les uns aux autres, pour constituer des amas plus ou moins considérables. Cette constatation nous semble intéressante. L'agglutination des spirilles de la septicémie des poules est un fait constant, si l'on a soin d'examiner le sang à des moments proches de la crise, et cependant l'étude histologique nous a montré que *in vivo*, la plupart des parasites circulent librement dans le plasma ou ne sont que très légèrement accolés les uns aux autres. Comme d'autre part, l'un de nous¹, en suivant longtemps sous le microscope le sort des anas qui abondent dans les préparations fraîches de sang provenant de poules atteintes de spirillose, avait constaté que ces amas disparaissaient au bout de quelques minutes et que les spirilles devenaient libres, nous avons conclu que l'agglutination du *Spirillum gallinarum* est un phénomène qui apparaît *in vitro* et seulement *in vitro*. Or, les choses ne se passent pas de la même manière avec le spirille de la *Tick-fever*. Ici, nous avons révélé un parallélisme presque absolu entre l'agglutinabilité des parasites dans les préparations fraîches et celle des spirilles contenus dans les vaisseaux (Pl. VIII, fig. 4), de sorte que, à ce point de vue, il y a lieu de faire une séparation bien marquée entre la septicémie causée par le spirille de Marchoux et Salimbeni et celle qui est provoquée par l'agent pathogène de la *Tick-fever*.

L'étude histo-pathologique de la septicémie spirillique des poules nous a montré que le *Spirillum gallinarum* est incapable de provoquer des lésions grossières des organes chez les animaux adultes; ce n'est que chez les embryons de poulet infectés par injection du virus dans l'œuf, que ce spirille engendre des altérations visibles à l'œil nu, en particulier des nécroses du foie². Il n'en est pas de même du spirille de la *Tick-fever*, lorsqu'il

1. LEVADITI, ces *Annales*, mars 1904.

2. LEVADITI, ces *Annales*, vol. XX, novembre 1906, p. 924.

évolue chez un animal très sensible, tel que la souris, par exemple.

En effet, injecté à des doses massives et dans la cavité péritonéale de cet animal, ce spirille est parfois capable d'engendrer des altérations hépatiques étendues, se traduisant macroscopiquement par des taches jaune grisâtre, répandues sur toute la surface du foie et, microscopiquement, par des nécroses insulaires du tissu glandulaire, riches en leucocytes polynucléaires altérés. Voici d'ailleurs les données expérimentales et microscopiques se rapportant à cette question :

Au début de nos recherches, malgré l'infection des souris par une assez grande quantité de virus, il nous a été impossible de découvrir des lésions manifestes des organes, sauf peut-être dans quelques cas, une infiltration mononucléaire disposée autour des vaisseaux hépatiques. Ce n'est que plus tard, lorsque nous avons déjà réalisé un grand nombre de passages de notre virus par l'organisme de la souris, que nous avons observé les altérations hépatiques dont il vient d'être question. Ces altérations font leur apparition le 3^e ou le 4^e jour après le début de l'expérience et sont loin d'être constantes. Sur un lot de 5 animaux, par exemple, inoculés au même moment avec la même dose de sang riche en spirilles, deux seulement peuvent offrir des lésions hépatiques, et cette proportion varie d'une expérience à l'autre. Somme toute, il nous a semblé que la genèse de ces lésions est sous la dépendance de la quantité de virus inoculé et que sa fréquence est proportionnelle à la durée de l'infection. En tout cas, ce n'est que chez les souris injectées dans le péritoine que nous avons vu se produire ces modifications dans la structure du foie.

Les coupes de foie, examinées à un faible grossissement (coloration au Giemsa ou au bleu de Unna (Pl. IX, fig. 1), montrent des foyers circonscrits, sans orientation précise, se détachant en clair sur le fond bien coloré du tissu. Autour de ces foyers, on remarque des vaisseaux gorgés de sang et qui sont, par place, obstrués par des thrombus leucocytaires. A un fort grossissement, on remarque que, au niveau de ces zones incolores, les éléments glandulaires sont totalement nécrosés, leur protoplasma coagulé et comme vitreux, leurs noyaux réduits à l'état de fragments. Sur des préparations imprégnées à l'argent et colorées en vert lumière et au rouge neutre, (Pl. IX, fig. 2) on retrouve la même nécrose en foyer du tissu hépatique (*n*) et en plus, on décèle une accumulation des spirilles autour des zones nécrosées (*s*). Malgré la destruction des cellules du foie, ces spirilles ont gardé intacte leur propriété de retenir l'argent. Ils sont logés dans les capillaires qui sillonnent ces zones nécrosées; et sont répandus parmi les nombreux leucocytes polynucléaires qui remplissent ces capillaires.

Intéressant est le fait que les vaisseaux sanguins qui sont autour et au centre des foyers nécrotiques sont très distendus et thrombosés, l'obstacle qui obstrue la lumière de ces vaisseaux étant constitué par un réseau de fibrine

emprisonnant dans ses mailles des leucocytes et de vrais paquets de spirilles. Ajoutons à cela que sur certaines coupes, les cellules hépatiques sises au voisinage immédiat des zones nécrotiques, montrent une prolifération de leurs noyaux (amitose) aboutissant à la formation de *cellules géantes* Pl. IX, fig. 2, cg).

En présence de ces constatations, il y a lieu de se demander si les altérations hépatiques qui viennent d'être décrites sont dues à une action directe exercée par les spirilles de la *Tick-fever* sur les éléments glandulaires, ou bien ces altérations sont-elles secondaires et déterminées par l'obstruction de certains vaisseaux du foie? Sans nier la possibilité d'une influence nécrotisante due à l'intervention de certains produits solubles sécrétés par les spirilles, nous penchons plutôt à admettre la seconde de ces interprétations. A la suite de la thrombose provoquée par l'accumulation de paquets de spirilles et de leucocytes en certaines régions du réseau vasculaire, il se produit une destruction nécrobiotique des éléments hépatiques, cependant que les spirilles s'accumulent et prolifèrent autour de ces foyers nécrosés. Quoi qu'il en soit, il nous a semblé intéressant d'insister sur ces modifications histologiques causées par le spirille de la *Tick-fever*, modifications dont la ressemblance avec certaines lésions apparaissant au cours de la fièvre récurrente est frappante.

*
* * *

La destruction, par voie de phagocytose, des spirilles de la fièvre récurrente au cours de la *crise* qui met fin à l'accès fébrile, a été mise en évidence par Metchnikoff ¹, dès 1897. Malgré les travaux de Gabritchewsky ², tendant à reléguer au second plan l'intervention des phagocytes dans l'épuration microbienne de l'organisme et à attribuer aux qualités spirillicides des humeurs le rôle principal dans le mécanisme de la destruction des spirilles, la plupart des auteurs (Bardach ³, Cantacuzène ⁴, Levaditi et Manouélian ⁵) qui ont étudié cette question en se servant d'autres spirilles que ceux de la fièvre récurrente, se montrent partisans de la façon de voir de Metchnikoff.

1. METCHNIKOFF, *Virchow's Archiv*, vol. 109, 1897.

2. GABRITCHEWSKY, ces *Annales*, vol. X, n° 11; vol. XI, n° 3. *Gbt für Bakteriologie* vol. XXIII, n°s 9-18; vol. XXVI, n°s 40, 46 et 47; vol. XXVII, n° 2.

3. BARDACH, ces *Annales*, vol. XIII, 1899, p. 364.

4. CANTACUZÈNE, ces *Annales*, vol. XIII, 1899, p. 529.

5. LEVADITI, ces *Annales*, vol. XVIII, mars 1904, p. 129. LEVADITI ET MANOUELIAN, déjà cités.

Pour ce qui concerne la *Tick-fever*, Robert Koch ¹, grâce à la méthode de frottis, a révélé l'existence d'un englobement des spirilles de la part des phagocytes, dans la rate des singes infectés avec le spirille africain. Nous avons examiné de plus près cette question en nous servant du procédé à l'argent, lequel appliqué pas nous à d'autres microorganismes spirillés (*Treponema pallidum* ², *Spirillum gallinarum* ³), s'est montré capable de mettre facilement en évidence les spirilles inclus dans les leucocytes. D'ailleurs, une méthode basée sur le même principe et utilisée par Bertarelli ⁴ pour l'étude histologique de la fièvre récurrente de l'homme, a déjà donné ses preuves, en laissant voir des spirilles inclus dans le proloplasma des leucocytes de la rate.

Nos études nous ont montré que si, chez le singe (*Macacus cynomolgus*), l'englobement des spirilles au voisinage de la crise s'opère grâce à l'intervention des polynucléaires accumulés dans la rate, conformément à ce qui a été vu par Metchnikoff dans la fièvre récurrente de l'homme, par contre, chez la souris, c'est le foie qui est le siège principal de l'anéantissement phagocytaire de ces spirilles. Chez les souris sacrifiées en pleine infection ou au voisinage de la crise, la glande hépatique montre de très nombreux macrophages renfermant des microorganismes spirillés dont la forme est plus ou moins modifiée. Ces macrophages, cellules mononucléées pourvues d'un protoplasma abondant, rappellent par leur aspect et leur disposition les cellules de Kupffer. Sises à l'intérieur des capillaires du foie (Pl. VIII, fig. 1, 2, 3 et 6) et accolées à la paroi de ces capillaires, ces cellules contiennent un nombre variable de spirilles. Ceux-ci ont rarement gardé leur aspect habituel; pour la plupart du temps ils sont enroulés sur eux-mêmes ⁵, forment des boucles et montrent toute une série d'altérations tendant vers la destruction complète des parasites phagocytés. Ces altérations se traduisent par des irrégularités dans la disposition des tours de spire, ainsi que par l'aspect moniliforme et la fragmentation du spirille.

1. R. KOCH, *déjà cité*.

2. LEVADITI, *ces Annales*, vol. XX, 1906, p. 41.

3. LEVADITI et MANOUËLIAN, *déjà cités*.

4. BERTARELLI, *déjà cité*.

5. On trouvera plus loin des détails concernant la signification qu'il y a lieu d'attribuer à cette disposition des spirilles en boucle.

Cette phagocytase des spirilles de la *Tick-fever* débute déjà pendant l'infection et s'accroît au fur et à mesure que l'on se rapproche de la crise. Une fois cette crise effectuée, il devient impossible de déceler dans le foie des parasites libres ou inclus dans le protoplasma des cellules de Kupffer, ni même des débris spirillaires contenus dans les phagocytes. La digestion intracellulaire des spirilles s'achève donc en même temps ou très peu après la fin de la crise.

Si l'enlèvement des microorganismes spirillés par les mononucléaires du foie apparaît d'une façon aussi claire que possible dans nos préparations, par contre, rien, au cours de nos recherches, n'est venu consolider l'hypothèse de la dissolution des spirilles de la *Tick-fever* en dehors des cellules, sous l'influence des principes bactéricides. Étant donné que ces spirilles sont assez volumineux et que, vers la fin de l'infection, ils sont disposés en de très gros amas, il nous semble impossible qu'une dissolution de ces spirilles puisse s'effectuer, sans qu'on n'en décèle les traces à un moment donné de la maladie. Or, quel que fut le soin que nous avons mis pour dépister des modifications de forme ou de colorabilité pouvant être invoquées en faveur de l'existence d'une telle destruction extra cellulaire des parasites, nos recherches sont toujours restées infructueuses.

Tant qu'il est encore possible de découvrir dans l'intimité des organes des spirilles libres colorables par l'argent, on ne décèle que des microorganismes intacts, offrant l'habituelle régularité de leurs tours de spire et une parfaite conservation de leurs caractères morphologiques et tinctoriaux. Nulle trace de spirilles moniliformes ou d'indices de transformation granulaire.

Tous ces faits nous amènent donc à conclure que, pareillement à ce qui se passe dans les autres spirilloses déjà étudiées expérimentalement (spirilliose des oies, spirilliose des poules, fièvre récurrente), la destruction critique des spirilles dans la Tick-fever est un phénomène essentiellement phagocytaire et nullement sous la dépendance de l'intervention directe des principes bactéricides. On ne nous objectera pas que l'absence des signes visibles d'une dissolution extra-cellulaire des spirilles pourrait être due à la destruction exceptionnellement rapide de ces parasites, ou à la non-colorabilité des formes dégénérées destinées à se fondre dans le

plasma circulant. Ces objections seraient mal fondées, pour les motifs suivants :

On ne connaît pas d'exemple de destruction humorale des bactéries s'opérant d'une façon aussi rapide et aussi intense que la transformation granulaire du vibron cholérique (phénomène de Pfeiffer). Or, même dans le cas de cette transformation en granule du vibron de Koch, il est possible de saisir sur coupes les diverses phases que traverse le processus, si l'on a soin de sacrifier les animaux peu de temps après le début du phénomène de Pfeiffer. Ainsi, l'un de nous ¹, en injectant dans les veines des cobayes activement vaccinés contre le *Vibrio Cassino*, une émulsion épaisse de vibrions, a pu retrouver, sur des coupes de poulmon, des amas vibriionniens entourés de leucocytes et formés par des virgules en voie de transformation granulaire.

D'un autre côté, nos recherches nous autorisent à affirmer que lorsque les spirilles subissent des changements morphologiques, indices de leur dégénérescence avancée (aspect moniliforme, formation de granules), ils continuent néanmoins à offrir une affinité marquée pour l'argent et peuvent être facilement décelés au microscope. C'est le cas par exemple des parasites inclus dans les phagocytes et soumis à l'influence des ferments endo-cellulaires. On ne saurait donc considérer comme bien fondées les objections que nous venons de formuler il y a un instant.

Nous avons d'ailleurs enregistré, au cours de nos expériences, un fait qui plaide directement contre la dissolution humorale des spirilles de la *Tick-fever* chez les souris en train d'effectuer leur crise. Le voici :

Une souris blanche est sacrifiée 5 jours après l'inoculation intra-péritonéale du virus, à un moment où l'examen microscopique du sang ne révélait plus la présence de spirilles libres. L'étude de nombreuses coupes de foie et de rate donna un résultat négatif, en ce sens que ni les vaisseaux, ni les cellules ne contenaient des microorganismes spirillés. Pourtant, dans le poulmon, au niveau d'un foyer inflammatoire et hémorragique, nous avons découvert un très grand nombre de ces microorganismes ayant conservé leur forme caractéristique et

1. LEVADITI, ces *Annales*, vol. XV, 1901, p. 94.

ne montrant aucun signe de transformation granulaire ou de dissolution (Pl. VIII, fig. 7). Cette constatation prouve que la disparition des spirilles du foie, de la rate et des autres organes n'a pu être le résultat d'une action dissolvante exercée par des principes bactéricides existant à l'état de liberté dans le plasma circulant. En effet, si ces principes circulaient réellement dans ce plasma, ils devraient atteindre, au même titre que les spirilles renfermés dans le foie et la rate, les parasites logés dans le poumon, et dans ce cas ceux-ci auraient dû montrer des signes de souffrance, ce qui n'a pas été le cas dans l'expérience que nous venons de citer. Force est donc de se rallier à l'opinion que nous avons annoncée dans un de nos précédents mémoires ¹, à savoir que les substances spirillicides sont, par suite du manque de cytase libre, incapables d'agir *in vivo* et que leur rôle doit se borner à faciliter et à exagérer la phagocytose des spirilles ², laquelle représente le seul moyen efficace que l'organisme emploie pour se défendre contre les septicémies spirilliennes.

*
* *

Nous avons observé, au cours de ces recherches, un phénomène particulier sur lequel nous désirons insister : c'est la disposition en boucle ou en peloton des spirilles inclus dans les macrophages du foie. Cette disposition est visible dans le foie des souris sacrifiées en pleine infection spirillienne et est représentée dans les figures 1, 2, 3 et 6 de la planche VIII. Ce n'est pas dans la *Tick-fever* que l'on a rencontré pour la première fois cet enroulement des spirilles sur eux-mêmes. Il a été déjà vu par Cantacuzène ³ sur des frottis de rate provenant d'oies inoculées avec le *Spirillum anserina* Sacharoff, frottis qui montrent des macrophages pourvus de vacuoles, à l'intérieur desquelles on distingue des spirilles disposés en peloton. L'un de nous ⁴, au cours de ses recherches ayant trait à la spirillose des poules (Marchoux et Salimbeni ⁵), a également constaté, dans la rate des

1. LEVADITI, ces *Annales*, vol. XVIII, mars 1904, page 143.

2. L'influence favorisante exercée par les anticorps spirillicides sur l'englobement des spirilles par les phagocytes, a été démontré par Sawtchenko (ces *Annales*, vol. XVI, n° 2). Elle doit être rangée dans la catégorie des phénomènes d'organisation sur lesquels Whright et ses élèves, Neufeld et Rimpau, Löhlein, etc., ont insisté dernièrement.

3. CANTACUZÈNE, déjà cité.

4. LEVADITI, déjà cité.

5. MARCHOUX ET SALIMBENI, ces *Annales*, vol. XVII, 1903, p. 569

oiseaux infectés, une multitude de spirilles entortillés, dont la plupart étaient inclus dans de gros phagocytes mononucléaires, et cette constatation fut récemment confirmée par Manouélian et Levaditi¹ et par Prowazek². Rappelons enfin que suivant le regretté Schaudinn, le *Treponema pallidum* serait capable, dans certaines conditions, de présenter la même disposition enchevêtrée.

Quelle signification faut-il accorder à cet enroulement particulier qui semble commun à la plupart des espèces de spirilles bien étudiés jusqu'à présent? Suivant Prowazek qui partage une opinion déjà formulée par Schaudinn, la disposition des microorganismes spirillés en boucle représenterait un stade de repos dans l'évolution de ces parasites, analogues à ceux qu'on a souvent rencontrés dans le cycle évolutif des protozoaires. On sait d'ailleurs que, d'après ces savants, les spirilles doivent être classés parmi les protozoaires et non parmi les bactériacées, comme le soutiennent R. Koch, Metchnikoff, Borrel et comme nous le pensons nous-mêmes.

Nos constatations nous ont amenés à des conclusions autres que celles auxquelles souscrivent Schaudinn et Prowazek. *Loin de considérer ces formes enchevêtrées comme un stade de repos dans l'évolution des spirilles, nous sommes enclins à voir dans l'enchevêtrement de ces spirilles un état de souffrance, précédant l'apparition des signes de dégénérescence et la désintégration plus ou moins complète de ces parasites.* Voici les faits que nous invoquons en faveur de notre manière de voir :

Tout d'abord il apparaît d'une façon non douteuse que l'enroulement des microorganismes spirillés s'opère le plus fréquemment à l'intérieur des phagocytes et qu'il intéresse des parasites destinés à se détruire sous l'influence des ferments endo-cellulaires. On suit d'ailleurs pas à pas la marche de cette destruction, qui débute par l'enchevêtrement des spirilles et qui finit par la transformation granulaire de ces microbes. Il est vrai que parfois nous avons décelé de ces formes enchevêtrées en dehors des phagocytes. Mais l'examen de nos coupes nous a montré que ces formes existaient précisément au niveau de foyers hémorragiques (foie de souris, fig. 8 de la planche VIII).

1. LEVADITI ET MANOUELIAN, déjà cités.

2. PROWAZEK, *Arb. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte*, vol. XXIII, fasc. 2, 1906, page 554.

3. LEVADITI, déjà cité.

c'est-à-dire dans un milieu où, par suite de la phagolyse, il s'est opéré une mise en liberté des bactériolysines leucocytaires.

Mais ce qui, d'après nous, prouve le plus la justesse de notre façon de voir est le fait suivant, rencontré au cours des recherches concernant la spirillose des embryons de poulet infectés par l'injection du virus de Marchoux et Salimbeni dans l'œuf fécondé. Si l'on examine le sort du *Spirillum gallinarum* introduit dans le blanc ou le jaune d'œuf et placé à 38°, on ne constate nulle trace de multiplication de ce spirille sur place. Les parasites s'immobilisent, deviennent moniliformes et finissent par disparaître complètement. Ils ne prolifèrent que dans le sang et les tissus de l'embryon, pour engendrer la septicémie étudiée de près par Borrel et par Levaditi, leur développement étant intimement lié à la vitalité des tissus qui les hébergent. Or, si dans ces conditions, on a soin de suivre les diverses phases de la destruction des parasites à l'endroit même où l'on a déposé le virus, on est surpris par l'abondance des formes enchevêtrées, entortillées, ce qui prouve que ces formes représentent en réalité le stade initial du processus de la désintégration spirillaire.

D'ailleurs, si ces formes indiquaient, comme le veut Prowazek, l'existence d'une phase de repos dans l'évolution des spirilles, phase qui expliquerait la conservation prolongée du virus pendant les périodes qui séparent les accès de la fièvre à rechute, on devrait continuer à les rencontrer soit libres, soit incluses dans les cellules, une fois la crise effectuée. Or, après la fin de cette crise, comme nous venons déjà de le dire, toute trace de parasites en spirales ou de spirilles entortillés disparaît dans le foie et la rate de la souris, du rat et même du singe.



Un mot encore à propos des rapports qui existent entre les parasites de la Tick-fever et les globules rouges. Comme on peut s'assurer en examinant les figures 1 et 2 de la planche VIII, il n'est pas rare de rencontrer, soit à l'intérieur des macrophages du foie, soit même en dehors de ces cellules, des spirilles disposés autour des hématies chez la souris, et parfois chez le singe (rate). Les phagocytes englobent donc non seulement des microorganismes spirillés libres, mais aussi des spirilles accolés

aux globules rouges, et font subir simultanément à ces éléments des modifications régressives. Le fait est intéressant et a été déjà rencontré dans la septicémie brésilienne de Marchoux et Salimbeni. Il résulte d'une communication orale de Borrel, que cet auteur a décelé, il y a déjà longtemps, le *Spirillum gallinarum* à l'intérieur des hématies de poule (*in vitro* et sur des frot-tis de moelle osseuse). Cette constatation, restée inédite, a été récemment confirmée par Prowazek, lequel s'est convaincu de la pénétration du spirille de Marchoux et Salimbeni dans les globules rouges. Cet auteur va même plus loin et admet que cette disposition représente un stade endo-cellulaire dans le cycle évolutif de ce spirille.

Nous ne pouvons rien affirmer de précis quant à l'existence de spirilles endo-globulaires chez les poules infectées par le *Spirillum gallinarum*, n'ayant pas étudié cette question de près. Mais, pour ce qui concerne le spirille de la *Tick-fever*, il nous semble difficile d'admettre que le rapport étroit que l'on relève parfois entre ce spirille et les hématies, indique réellement la pénétration des parasites dans ces hématies. En effet, nous avons toujours constaté que les microorganismes spirillés faisaient comme une sorte de cercle autour du globule rouge et qu'ils n'offraient pas la moindre tendance à s'insinuer dans le protoplasma de ce globule. *Il ne saurait donc être question de l'existence d'un stade endo-globulaire du spirille de la Tick-fever*¹.

1. Nous avons recherché si à l'exemple du *Spirillum gallinarum*, le spirille de la *Tick-fever* envahit l'ovule des animaux infectés. Malgré l'examen d'un grand nombre de coupes, nous n'avons rencontré qu'une seule fois des spirilles typiques dans le follicule de Graaf, chez le rat.

Décembre 1906.

LEGENDES DES PLANCHES VIII ET IX

Pl. VIII. — *Fig. 1.* — Coupe de foie d'une souris sacrifiée vers la fin de l'infection. *m*, macrophage contenant des spirilles entortillés autour des globules rouges (*g*).

Fig. 2. — Même coupe. *m*, macrophage renfermant des spirilles ondulés, des hématies et des spirilles entourant les globules rouges (*g*).

Fig. 3. — Coupe de foie d'une souris sacrifiée en pleine infection. *n*, cellule hépatique; *m*, macrophage renfermant des spirilles ondulés ou entortillés (*s*).

Fig. 4. — Coupe de foie d'une souris sacrifiée en pleine septicémie. *r*,

vaisseau hépatique; *p*, leucocyte polynucléaire; *s*, spirilles agglutinés. Les débris colorés en noir que l'on voit au voisinage des amas de spirilles ne sont pas des parasites dégénérés, mais des fragments de spirilles coupés obliquement.

Fig. 5. — Coupe de rate d'une souris infectée. c, cellule splénique; *m*, megacaryocyte contenant un spirille *s*.

Fig. 6. — Coupe de foie d'une souris sacrifiée en pleine infection. m, macrophage contenant un spirille ondulé et un spirille disposé en boucle (*s*).

Fig. 7. — Coupe de poumon d'une souris sacrifiée après la crise. a, alvéoles pulmonaires contenant un grand nombre d'hématies; *s*, spirilles.

Fig. 8. — Coupe de foie d'une souris sacrifiée vers la fin de l'infection. n, cellule hépatique; *h*, foyer hémorragique; *s*, spirilles entortillés.

Pl. IX. — *Fig. 1. — Coupe de foie d'une souris sacrifiée en pleine infection. n*, foyer de nécrose; *p*, leucocytes polynucléaires. (Coloration par l'éosine et le bleu de toluidine.)

Fig. 2. — Même coupe à un fort grossissement (imprégnation à l'argent). ch, cellules hépatiques; *n*, zone de nécrose; *p*, débris de leucocytes polynucléaires; *cg*, cellules à noyaux multiples; *s*, spirilles.

ACTION DU VIN SUR LE BACILLE D'EBERTH

PAR MM. J. SABRAZÈS ET A. MARGANDIER (DE BORDEAUX)

La fièvre typhoïde se propage surtout, si on s'en rapporte à la doctrine classique, par l'eau de boisson, encore que la part de la contagion directe soit loin d'être négligeable. Le rôle de l'eau dans la transmission de la maladie a suscité d'innombrables recherches cliniques et expérimentales.

Parmi les questions que se pose le médecin, quand il envisage ce problème, les suivantes viennent naturellement à l'esprit : lorsque le bacille d'Eberth se trouve dans l'eau de consommation, y reste-t-il vivant et susceptible de nuire, quand on ajoute cette eau à du vin, ainsi qu'il est d'usage pendant les repas? Des vins mouillés, avant leur mise en bouteille, avec une eau bacillifère conservent-ils longtemps vivants les germes de dothientérie?

On qualifie souvent le vin d'excellent antiseptique ayant immédiatement raison des impuretés microbiennes de l'eau. Y a-t-il quelque lueur de vérité dans cette opinion courante? En ce qui concerne le vin, on ne s'est guère préoccupé de répondre à ces questions. D'autres boissons fermentées, le cidre, la bière ont donné lieu à des travaux dans ce sens. Le vin n'a été étudié à cet égard que par Aloïs Pick. Dans une première note ¹ très succincte, il indique le pouvoir bactéricide, vis-à-vis du bacille d'Eberth, des vins purs blancs et rouges; l'adjonction de parties égales d'eau exigerait un contact de 24 heures pour que le mélange vint à bout de ces germes. Dans une seconde note ² cet auteur précise un peu plus. Le bacille typhique résisterait plus d'une demi-heure dans des vins de table blancs et rouges, une heure dans un vin étiqueté Ssegszarder, 5-10-30 minutes dans du Mailberger, 15 minutes dans du Vöslauer. Coupés d'eau par moitié, tous ces vins, même les plus bactéricides, n'arrivaient pas à tuer le bacille d'Eberth au bout d'une demi-heure.

1. ALOIS PICK, *Ueber der Einfluss des Weines auf die Entwicklung der Typhus- und Cholera-Bacillen*. *Centralbl. für Bakter*, 1892 p. 293-294.

2. ALOIS PICK, *Ueber die Einwirkung von Wein und Bier, sowie von einigen organischen Säuren auf die Cholera-und Typhus-Bakterien*. *Archiv. für Hygiene* 1893, p. 51-61.

Nos premiers essais ont porté sur un vin rouge ordinaire de Carignan, provenant de la Gironde, mis en bouteille le jour même de l'examen. L'analyse donnait les résultats suivants : alcool 11°2; acidité en SO^{H}_2 5,14; extrait sec 24,8; sulfate de potasse 1 gramme par litre; chlorures 0,40. Ce vinensemencé dans du bouillon (12 décembre 1906), à raison d'une goutte par tube de 10 c. c. a fourni à 37° des cultures d'un streptobacille prenant le gram, et de rares levures. Ce même microbe a seul cultivé à 37°, 24 heures après incorporation de bacille d'Eberth (deux gouttes d'un bouillon de 3 jours dans 10 c. c. de ce vin); même résultat, ce vin étant dédoublé avec de l'eau stérile.

Un vin rouge analogue au précédent (alcool 9°1, acidité 4°r,90, extrait 17, sulfate de potasse moins de 1 gramme, chlorures 1,053) est filtré à la bougie Chamberland. Le 12 décembre on prépare 8 tubes : 3 contiennent 10 c. c. de vin pur; 2 10 c. c. d'un mélange à parties égales d'eau de fontaine stérilisée et de vin; 2 autres 10 c. c. d'un mélange avec un tiers d'eau. On ajoute à chacun 2 gouttes de culture d'Eberth et on les laisse à 15°. On fait trois ensemencements successifs à une demi-heure d'intervalle chacun, en agitant préalablement les tubes. Les rétrocultures étaient encore positives au bout d'une heure et demie; mais dix heures après le début de l'expérience aucun ensemencement n'était fertile.

Le 14 décembre 1906, on prépare une série de mélanges semblables et on procède toutes les demi-heures à des transports en bouillon; les conditions expérimentales et les résultats sont consignés dans le tableau suivant (le signe + indique les rétrocultures positives, le signe —, les négatives) :

DILUTION	GOUTTES de CULTURE	TEMPS ÉCOULÉ DEPUIS L'INTRODUCTION DU MICROBE DANS LE VIN ET TEMPÉRATURES										
		40 m.	1h.1/2	2 h.	3 h.	4 h.	5 h.	6 h.	7 h.	8 h.	9 h.	10 h.
		18°	19°	19°	18°	17°5	17°	17°2	18°	17°2	17°5	17°
10 c. c. vin pur.	2	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
— dilué 1/2	2		+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
— id	3		+	+	+	+	—	+	+	+	—	—
— 2/3	5		+	+	+	+	—	+	+	+	—	—

Le bacille d'Eberth a donc vécu deux heures dans ce vin ordinaire, tel qu'il est livré à la consommation, et quatre heures dans ce vin coupé d'eau par moitié. Quand la dose de culture incorporée au vin est de cinq gouttes au lieu de deux, la survie est de près de neuf heures.

Le 16 décembre 1906, un vin blanc sec de Cérons (1890), en bouteille depuis plus de dix ans, ayant les caractères suivants : alcool 10°,7, acidité 5, extrait 22,8, sulfate de potasse plus de 1 gramme, est filtré à la bougie ; on en répartit aseptiquement 10 c. c. dans des flacons qu'on additionne les uns de deux gouttes, les autres de cinq gouttes de culture d'Eberth et qu'on laisse à la température de 17°-18°. Des rétrocultures faites toutes les heures sont restées négatives. Le bacille d'Eberth est donc tué en moins d'une heure dans ce vin.

Le 17 décembre, on refait l'expérience en transportant toutes les cinq minutes une anse de platine des mélanges dans le bouillon.

Résultats : le bacille d'Eberth ne vit que vingt minutes dans ce vin de Cérons.

Le 18 décembre 1906, nous opérons, dans les mêmes conditions de température sur un vin de champagne sec, ayant plusieurs années de bouteille, provenant d'Épernay (alcool 9°,7, acidité 5,78, sulfate de potasse moins de 1 gramme), et sur un vin rouge de Bordeaux — Saint-Estèphe, cos d'Estournel 1888 (alcool 8°,5, acidité 4,16, extrait 10,1, sulfate de potasse moins de 1 gr. chlorures 0,35), — l'un et l'autre stériles au débouchage (ensemencements en bouillon et sur gélose) et que, par suite, nous ne filtrons pas à la bougie.

On fait, dans les mêmes proportions que ci-dessus, des mélanges de vin pur et de cultures et, toutes les cinq minutes, on transporte une anse de platine des mélanges dans des tubes de bouillon. Dans le champagne, le bacille d'Eberth est tué en moins de dix minutes. Dans le bordeaux, la culture est encore positive après 30 minutes.

Dédoublons ce champagne avec de l'eau de la ville, bouillie et refroidie ; le bacille d'Eberth n'y succombe dès lors qu'au bout de 1 heure 1/2.

Le vin rouge de Bordeaux (cos d'Estournel 1888), additionné de deux gouttes de culture d'Eberth par 3 c. c. et laissé 2 heures à 15° n'a pas cultivé ; additionné de 5 gouttes, la tem-

pérature étant la même, il a fourni une culture positive, dans le même laps de temps, tandis que, toutes choses étant égales, sauf la température portée à 37°, le bacille a été tué.

Le 26 décembre 1906, nos expériences portent sur trois vins :

1° Un vin blanc jeune du commerce, très ordinaire mais non fraudé, originaire de Sadirac (Gironde), marqué 1903, mis en bouteille depuis 8 jours (alcool 8°,2, acidité 3,3, extrait 26,3, sulfate de potasse moins de 1 gramme, acide sulfureux libre 123 milligrammes par litre);

2° Un vin de grenache-Roussillon 1900 — : alcool 15° 3, acidité 4,06, sulfate de potasse moins de 1 gramme;

3° Un vin rouge de Bourgogne (Beaune 1898) : alcool 10° 5, acidité 4, 41, extrait 18,4, sulfate de potasse moins de 1 gramme.

Ces trois vins n'ont pas cultivé au débouchage (ensemencements aérobies et anaérobies dans du bouillon, négatifs).

On ajoute à ces vins 2 gouttes normales par 10 c. c. de bacille d'Eberth en bouillon datant de 3 jours.

Voici les résultats :

Le vin blanc pur de Sadirac stérilise les germes typiques en moins de 15 minutes.

Le bourgogne et le grenache tuent le bacille d'Eberth en moins de 30 minutes.

Le vin blanc de Sadirac, de consommation courante, dilué 1/2 et à 1/3, amène encore la mort de ce germe en un quart d'heure. Par contre, ce même vin blanc pur, non dilué, mais exactement neutralisé, cultive encore au bout de 6 heures 1/2, neutralisé et dilué à 1/2, au bout de 4 jours. Une fois saturé, ce vin se conserve du reste très mal; il se transforme en vinaigre. Par contre, à l'état pur, sa conservation est parfaite.

Telles sont les expériences réalisées par nous jusqu'à présent.

Au cours de ces recherches nous avons fait quelques remarques dignes d'être mentionnées :

5 gouttes des vins examinés, ajoutées à 10 c. c. de bouillon, n'infertilisent pas le milieu; le bacille d'Eberth s'y développe normalement. Or toutes nos rétrocultures énumérées ci-dessus se faisaient à l'anse de platine; la gouttelette de vin ainsi introduite dans le bouillon ne pouvait en rien gêner le développement du microbe.

A 1/30 les vins employés n'agglutinent presque pas le

bacille d'Eberth qui ne tarde pas à devenir moins mobile. Après 24 heures de contact, des agglutinats de bacilles morts, reconnaissables morphologiquement, décolorés par le gram sont trouvés au fond des tubes. Les vins rouges riches en tannin, tels que le cos d'Estournel, se clarifient, pâlissent et laissent déposer, dans ces conditions, beaucoup de très fins grumeaux pulvérulents.

Quand on pratique des ensemencements en série des divers vins additionnés de bacilles d'Eberth, au fur et à mesure que le contact se prolonge, les colonies de rétroculture, dans les semis en surface sur milieux solides, vont peu à peu se raréfiant : le bacille ne se multiplie pas dans le vin, il s'y détruit progressivement.

Dans les transports successifs en bouillon, de gouttelettes de mélanges Eberth-vin, les formes filamenteuses du bacille nous ont paru augmenter de nombre.

Nous avons opéré parallèlement sur deux bacilles d'Eberth, l'un servant depuis longtemps au laboratoire pour la séro-réaction, l'autre extrait récemment d'une rate typhique : les résultats n'ont varié que dans de faibles limites.

Des passages sur milieux d'épreuve — bouillon-lactosé, pomme de terre, gélose fuchsinée, gélose de Conradi-Drígalski, etc. — nous donnaient la preuve, à chaque série d'expériences, de la pureté des cultures.

Il résulte de nos constatations que les vins conservés depuis longtemps en bouteille sont stériles quand on les sème dans du bouillon de viande et sur gélose, tandis que les vins rouges puisés quotidiennement au tonneau contiennent des bactéries et des levures qui cultivent très bien dans ces conditions.

Les vins purs exercent une puissante action bactéricide sur le bacille d'Eberth, mais cette action varie d'intensité avec la nature et la qualité des vins.

Les vins blancs se sont révélés plus actifs que les rouges. Le tableau suivant rend compte de l'échelle décroissante des propriétés bactéricides, en regard des diverses particularités analytiques que nous devons, pour la plupart, à l'obligeante collaboration de M. A. Auché, professeur de pharmacie et de chimie à l'Ecole de santé navale de Bordeaux et à celle de M. R. Dupouy, professeur de matière médicale à la Faculté :

NATURE DES VINS	Années	Alcool	Acidité en SO ⁴ H ²	Extrait sec	SULFATE de potasse.	Chlorures	ACIDE sulfureux libre.	MORT DU BACILLE D'EBERTH
Champagne sec...	Plus.	9 ^o ,7	5,78		— de 1 ^{re}			Moins de 10 min.
Sadirac blanc....	1903	8 ^o ,2	5,3	26,3	—		0,123	— 15 —
Cérons blanc.....	1890	10 ^o ,7	5	22,8	+ de 1 ^{re}			20 minutes.
Grenache.....	1892	15 ^o ,3	4,06					Moins de 30 min.
Beaune rouge....	1898	10 ^o ,5	4,45	18,4	— de 1 ^{re}			— 30 —
Cos d'Estournel r.	1888	8 ^o ,5	4,46	10,1	—	0,35		Moins de 2 heures.
Rouge carignan..	Jeune.	9 ^o ,1	4,90	17	—	1,053		— 3 —
Sadirac blanc neu- tralisé.....	1903	8 ^o ,2	0	26,3	—			Survie au delà de 6 heures 1/2.

L'acidité joue sans doute un rôle prépondérant. En effet, un vin neutralisé, comme le Sadirac, qui, avant la saturation tuait le bacille d'Eberth en moins d'un quart d'heure, le laisse vivant, après neutralisation, plus de 6 heures 1/2, et plusieurs jours quand on le dilue à moitié.

L'action bactéricide des acides sur le bacille d'Eberth a du reste été très bien étudiée par S. Kitasato⁴. L'acide sulfurique tue ce microbe en 4 à 5 heures, à une concentration de 0,8 0/0 ; puis viennent, classés par activité décroissante, les acides chlorhydrique (0,2 0/0), azotique (0,2), sulfurique (0,28), acétique (0,3), phénique (0,34), formique (0,356), oxalique (0,366), lactique (0,4), tartrique, citrique, malique (0,476), tannique (1,66), borique (2,7). Aloïs Pick arrive à peu près aux mêmes résultats pour les acides formique, acétique, tartrique, citrique. Parmi ces acides, plusieurs se retrouvent, à doses très variables, suivant l'ancienneté, la nature, le cru, etc., dans les vins ; tels les acides tartrique, malique, tannique, acétique, citrique à côté des acides succinique, propionique, butyrique et valérique. Ils sont en partie à l'état libre, en partie combinés, en partie éthérifiés.

Tous ces acides concourent respectivement, chacun pour une part difficile à évaluer, à rendre le vin bactéricide.

4. S. KITASATO, Ueber das Verhalten der Typhus- und Cholerabacillen zu saure oder alkalihaltigen Nährböden, *Zeitschrift für Hygiene*, 1888, drittes Bd, S. 404-426.

L'hyperacidité des vins blancs, qui figurent dans notre tableau, explique leur supériorité à cet égard. Leur teneur relativement élevée en acide sulfureux doit contribuer aussi à leur conférer un pouvoir bactéricide plus élevé. L'introduction du gaz sulfureux dans le vin, et surtout dans le vin blanc, est une véritable nécessité. Ce gaz provient des méchages successifs que subit le vin blanc pendant les trois ou quatre ans de conservation en barrique qui précèdent la mise en bouteille. « On peut affirmer que l'acide sulfureux est indispensable au développement et au maintien des qualités des vins blancs, de quelque nature qu'ils soient ¹. » En général ² les vins de France renferment moins de 200 milligrammes d'acide sulfureux par litre; cependant quelques grands crus de Bourgogne et la plupart des vins de la région de Cérons, Freignac, Sauternes (Gironde) peuvent contenir jusqu'à 400 milligrammes. La plus grande partie de l'acide sulfureux se combine dans les vins avec les matières organiques, surtout avec les aldéhydes et les sucres; l'acide sulfureux combiné est très peu antiseptique. Une autre partie s'oxyde, forme des sulfates et enrichit le vin en sulfate de potasse qui n'est lui-même que bien faiblement microbicide. Enfin une notable quantité d'acide sulfureux reste libre dans le vin et influe considérablement sur sa conservation. Schmitt, Schaffer et Bertschinger ont montré que le « pouvoir antiseptique de l'acide sulfureux libre, pour certains organismes du vin, était au moins dix fois plus grand que celui de l'aldéhyde sulfureux ³ ». De même la nocivité pour l'homme de l'acide libre et de l'acide combiné présente des différences très tranchées : le premier est beaucoup plus toxique que le second ⁴.

Le taux de l'acide sulfureux libre oscille dans les vins blancs de 10 à 50 milligrammes par litre et atteint exceptionnelle-

1. J. LABORDE, Les vins blancs et l'acide sulfureux, *Extrait de la Revue de viticulture* 1905.

2. P. CARLES, L'acide sulfureux en œnologie et en œnotechnie avec rapport au Comité technique et réponse de la douane américaine. Éditeurs : Feret (Bordeaux), Mulo et C^{ie} (Paris), 1905.

3. J. LABORDE, *Loc. cit.*

4. M.-L. MATHIEU, Rapport sur la limitation des doses d'acide sulfureux dans les vins. Minist. de l'Agricult.; office des renseignements agricoles. Extrait du *Bulletin mensuel*, juin, juillet et août 1902.

CH. BLAREZ et J. GAUTRELET, Action physiol. et toxique des solutions d'acide sulfureux en injections sous-cutanées; des solutions d'aldéhyde ordinaire ou éthanal; des combinaisons d'acide sulfureux et d'éthanal, *Soc. de Biologie*, tome 2^e, 1905, pages 154-158.

ment 100 à 130 milligrammes. Dans le vin blanc de Sadirac, qui a servi à nos expériences, cette valeur atteignait 123 milligrammes ; c'était un vin jeune, n'ayant que quelques jours de bouteille ; dans les vins plus âgés cette valeur décroît avec le temps.

Nous pensons que les vins blancs empruntent à la présence d'acide sulfureux libre un certain appoint bactéricide, les données suivantes de P. Miquel¹ plaident dans ce sens : les solutions aqueuses d'acide sulfureux à 1/1500 s'opposent à la multiplication du bacille d'Eberth et le tuent à 1/1000.

Ajoutons qu'aux concentrations les plus élevées d'acide sulfureux libre signalés ci-dessus, les vins blancs sont inoffensifs, comme l'ont démontré les expériences classiques de Leuch, surtout les vins de luxe, comme les Sauternes, dont on ne boit que de minimes quantités à la fois.

Le degré alcoolique (8° à 15° dans nos échantillons) n'influe guère sur le pouvoir bactéricide. A 25° l'alcool éthylique épargne, pendant 24 heures, des microbes tels que le colibacille et le staphylocoque doré² d'une sensibilité aux antiseptiques très voisine de celle du bacille d'Eberth. D'autres substances renforcent sans doute les propriétés microbicides du vin — glycérine, éthers, alcool amylique, aldéhydes très oxygénées constituant, d'après Berthelot, la véritable essence du bouquet³, etc. ; mais nous ne possédons aucune certitude à cet égard.

La dilution atténue considérablement l'action antiseptique du vin ; c'est ainsi qu'un vin rouge ordinaire, additionné d'eau à 1/2 ou à 2/3, n'est plus actif qu'au bout de 4 heures au lieu de 2 ; le champagne dédoublé, au bout d'une heure 1/2 au lieu de 10 minutes. Toutefois nous avons vu un vin blanc de table très acide et riche en acide sulfureux libre (Sadirac 1903) supporter des dilutions à 1/2 et à 1/3 sans perdre ses capacités germicides qui se manifestaient en 15 minutes.

La quantité des germes introduits dans la boisson influe considérablement sur le temps de stérilisation : un vin rouge commun souillé de deux gouttes de culture en triomphe

1. P. MIQUEL. De la désinfection des poussières sèches des appartements. Action de l'acide sulfureux sur les bouillons de peptonesensemencés avec les bacilles du charbon, d'Eberth et le spirille de Koch. *Annales de micrographie* 1894, pages 329-330.

2. RAFAEL MINECOINI. Ueber die baktericide Wirkung des Alkohols. *Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten*, Bd 29, S. 117-148.

3. A. GAUTIER. L'alimentation et les régimes, Paris 1904, page 269.

dans un laps de temps de deux heures ; mais cinq gouttes exigent neuf heures ; il est vrai que dans ce dernier cas il faut tenir compte de modifications de l'acidité et de la dilution imprimées au vin par l'apport d'un bouillon qui peut ne pas être rigoureusement neutre.

La température a aussi son importance : à 37° le vin vieux de Saint-Estèphe est plus antiseptique qu'à 15°.

Ainsi, laissé en bouteille, le vin se débarrasse au bout de quelque temps, des germes que pouvait contenir l'eau ayant servi à le mouiller ; parmi ces germes le bacille d'Eberth est très vulnérable ; dans un laps de temps assez court, au contact des vins purs, il est stérilisé.

Le vin additionné par moitié, au moment du repas, d'une eau bacillifère et ingéré séance tenante, perdra beaucoup de son pouvoir bactéricide, en supposant même que ce pouvoir continue à s'exercer le long du tube digestif, d'où la possibilité d'une contamination éberthienne dans ces conditions.

En faisant le mélange à parties égales d'eau suspecte et de vin, six heures avant le repas pour le vin blanc, douze heures avant sa consommation pour le rouge, tout danger pourra être écarté ; ce serait même là, à défaut d'ébullition, de filtre et de tout autre agent purificateur, un moyen de corriger les souillures d'une eau.

Cette pratique de la dilution *ante cibum* depuis longtemps en vigueur dans les collectivités — « l'abondance » des pensionnats — se trouve donc pleinement justifiée.

Les propriétés bactéricides des vins conservés en bouteille seraient susceptibles d'être utilisées, à défaut d'autre antiseptique, par les chirurgiens ou les accoucheurs dans des cas pressants.

ERRATA

1^o Mémoire J. CANTACUZÈNE et P. RIEGLER, mars 1907.

Pl. III. Au lieu de 2 lire 1 bis.

—	—	4	— 2
—	—	5	— 3
—	—	1 bis	— 4
—	—	3	— 5

2^o Mémoire TIZZONI et BONGIOVANNI (même numéro, page 237, ligne 9, au lieu de : les rayons X, lire les rayons α).

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire.